

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre los riesgos microbiológicos asociados al consumo de determinados alimentos por niños de 0 a 3 años

Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición

Elena Alonso Lebrero, José Manuel Barat Baviera, María Pilar Conchello Moreno, Ramón Estruch Riba, María Antonia Ferrús Pérez, Guillermina Font Pérez, Susana Guix Arnau, Arturo Hardisson de la Torre, Ángeles Jos Gallego, Ascensión Marcos Sánchez, Amelia Marti del Moral, Olga Martín Belloso, María Aránzazu Martínez Caballero, Alfredo Palop Gómez, Gaspar Pérez Martínez, José Luis Ríos Cañavate, Gaspar Ros Berrueto, Jesús Ángel Santos Buelga, Jesús Simal Gándara, Josep Antoni Tur Marí

Secretario técnico

Vicente Calderón Pascual

Número de referencia: AECOSAN-2015-006

Documento aprobado por la Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición del Comité Científico en su sesión plenaria de 18 de noviembre de 2015

Grupo de trabajo

María Antonia Ferrús Pérez (Coordinadora)
Elena Alonso Lebrero
María Pilar Conchello Moreno
Susana Guix Arnau
Alfredo Palop Gómez
Gaspar Ros Berrueto
Jesús Ángel Santos Buelga
Josep Antoni Tur Marí

Resumen

Los niños menores de 3 años son especialmente susceptibles a las enfermedades transmitidas por los alimentos debido, entre otros factores, a la inmadurez de su sistema inmunitario. La incidencia de enfermedades transmitidas por alimentos en este grupo de edad es mucho mayor que en la población en general. Teniendo en cuenta el estricto control sanitario existente durante la etapa pediátrica, los lactantes y niños de corta edad constituyen un grupo de población sobre el que las medidas de prevención basadas en la comunicación del riesgo y la educación para la salud pueden ser muy eficaces.

Así pues, con el objetivo de establecer unos principios sobre los que realizar actividades de gestión y comunicación del riesgo, el Comité Científico ha elaborado un informe en el que se presentan aquellos patógenos transmitidos por alimentos de especial riesgo para lactantes y niños de corta edad, analizando en cada caso los factores que afectan a su supervivencia y crecimiento, así como las medidas de prevención más eficaces, incidiendo en aquellas que pueden ser ejercidas por los consumidores.

Se han diferenciado los principales riesgos microbiológicos para cada grupo de edad: lactantes (leche materna o preparados para lactantes), niños que consumen alimentos triturados y aquellos que tienen una alimentación completa.

En el caso de la lactancia materna, se revisan las infecciones que la contraindican de forma absoluta (brucelosis, VIH, HTLV) o relativa. Respecto a los lactantes alimentados con preparados en polvo, se incide especialmente en el riesgo de infección por *Salmonella* y *Cronobacter*, debido a que existen claras pruebas de una relación causal entre su presencia en los preparados para lactantes y el desarrollo de enfermedad en éstos, y se presentan las principales medidas higiénicas a respetar en la preparación y manipulación de biberones.

En el caso de los niños que tienen una alimentación triturada o completa, se destaca la necesidad de incluir en cualquier campaña de comunicación del riesgo instrucciones relativas a la manipulación higiénica de los alimentos en el hogar. Por último, se incluye una lista de alimentos cuyo consumo puede suponer un riesgo para este grupo de población.

Palabras clave

Lactantes, niños de corta edad, riesgos microbiológicos, *Salmonella*, *Cronobacter*, virus, patógenos alimentarios, preparados para lactantes, preparación de biberones, alimentos infantiles, prácticas higiénicas de manipulación de alimentos.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Consumer Affairs, Food Safety and Nutrition (AECOSAN) on the microbiological risks associated with the consumption of certain foods for children aged 0 to 3

Abstract

Children under 3 years old are particularly susceptible to foodborne diseases, due in part to the immaturity of their immune systems. The rate of foodborne diseases among this age group is much higher than it is for the general population. Considering the strict sanitary controls in place during paediatric stage, methods of prevention based on risk communication and health education might be the most effective for the infants and young children population group.

Therefore, in order to determine some basic principles for implementing management activities and risk communication, the Scientific Committee has drafted a report, examining certain foodborne pathogens which present a particularly high risk for infants and young children, in each case analyzing the factors which affect their survival and growth, as well as the most effective prevention methods, and highlighting what people can do themselves.

A distinction is made between the main microbiological risks for each age group: infants (either breastfed or fed with formulae), children on soft foods and children on solid foods.

In the case of breastfed children, infections that should absolutely be avoided are reviewed (brucellosis, HIV, HTLV), as well as ones that should generally be avoided. Meanwhile, infants fed with formulae are especially at risk of infection from *Salmonella* and *Cronobacter*, and there is clear evidence for a causal relationship between its presence in prepared infant formulae and them developing an illness. The key food hygiene precautions to take when preparing and using feeding bottles are presented.

In terms of children with a soft or solid food diet, there is an emphasis on the need to include instructions for handling food hygienically at home in risk communication campaigns. Lastly, a list of foods which present a risk to this population group is included.

Key words

Infants, young children, microbiological risks, *Salmonella*, *Cronobacter*, virus, foodborne pathogens, infant formulae, preparation of infant feeding bottles, infant food, hygienic food handling.

1. Glosario

Los términos y definiciones utilizados en el presente documento son los recogidos en la legislación vigente:

- Real Decreto 867/2008, de 23 de mayo, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria específica de los preparados para lactantes y de los preparados de continuación, por el que se traspone la Directiva 2006/141/CE (BOE, 2008):
 - Lactantes: los niños que tengan menos de 12 meses.
 - Niños de corta edad: los niños entre 1 y 3 años de edad.
 - Preparados para lactantes (PPL): los productos alimenticios destinados a la alimentación especial de los lactantes durante los primeros meses de vida, que satisfagan por sí mismos las necesidades nutritivas de estos lactantes hasta la introducción de una alimentación complementaria apropiada.
 - Preparados de continuación: los productos alimenticios destinados a la alimentación especial de los lactantes cuando se introduzca una alimentación complementaria apropiada que constituyan el principal elemento líquido de una dieta progresivamente diversificada de estos lactantes. Estos productos, como se indica en otra parte del Real Decreto, son adecuados únicamente para la alimentación especial de niños mayores de 6 meses, que solo debe ser parte de una dieta diversificada, y que no debe utilizarse como sustitutivo de la leche materna, durante los primeros 6 meses de vida y que la decisión de iniciar la alimentación complementaria, incluida cualquier excepción respecto a los 6 meses de edad, debe adoptarse únicamente siguiendo el consejo de personas independientes, cualificadas en medicina, nutrición o farmacia o de otros profesionales encargados de la asistencia materna e infantil, basándose en las necesidades específicas de crecimiento y desarrollo del lactante en cuestión. Esta información se debe proporcionar en el etiquetado de estos alimentos.
- Reglamento (CE) N° 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios (UE, 2005):
 - Alimentos destinados a los lactantes: alimentos específicamente destinados a los lactantes, tal como se definen en la Directiva 2006/141/CE.
 - Alimentos destinados a usos médicos especiales: alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales, tal como se definen en la Directiva 1999/21/CE.
- Real Decreto 490/1998, de 27 de marzo, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria específica de los alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad que traspone la Directiva 96/5/CE (BOE, 1998):
 - Alimentos elaborados a base de cereales, que se dividen en las cuatro categorías siguientes:
 - a) Cereales simples reconstituidos o que deben reconstituirse con leche u otro líquido alimenticio adecuado.
 - b) Cereales con adición de otro alimento rico en proteínas reconstituidos o que deben reconstituirse con agua u otro líquido que no contenga proteínas.
 - c) Pastas que se deben cocer en agua hirviendo o en otros líquidos apropiados antes de su consumo.

d) Bizcochos y galletas que pueden consumirse directamente o, una vez pulverizados, con adición de agua, leche u otro líquido adecuado.

– Alimentos infantiles distintos de los alimentos elaborados a base de cereales.

2. Introducción

Los niños menores de 3 años son especialmente susceptibles a las enfermedades transmitidas por los alimentos debido a diversos factores fisiológicos, como son la inmadurez de su sistema inmunitario, la menor producción de secreción gástrica (Rabet et al., 2008) o la existencia de factores de riesgo asociados a su comportamiento específico (gateo, llevarse manos y objetos a la boca, etc.) que aumentan la probabilidad de exposición a los patógenos entéricos (Sockett y Rodgers, 2001). La incidencia de enfermedades transmitidas por alimentos en este grupo de edad es mucho mayor que en la población en general, incluso considerando que se diagnostican con mayor frecuencia (Scallan et al., 2013).

El neonato y el lactante presentan diferencias inmunológicas con el sistema inmunitario del adulto. Neonatos y niños sanos son inmunocompetentes pero, debido al estado virgen de su sistema inmunitario, reaccionan de manera diferente frente a antígenos y son menos eficientes ante ciertos patógenos, por lo que son más susceptibles a infecciones. Es decir son temporalmente menos competentes, siendo el desarrollo de esta competencia gradual y sujeto a un proceso de adaptación a través de la exposición a antígenos y patógenos.

En condiciones normales, la exposición previa no ha existido y el sistema inmunitario debe adaptarse a la vida extrauterina. Esta inexperiencia y la prevalencia de los factores supresores durante el embarazo aumentan la susceptibilidad del neonato y niño pequeño a las infecciones.

Un factor importante para la efectividad del sistema inmunitario es la edad gestacional. El neonato nacido a término (>37 semanas) es más competente que el prematuro (<37 semanas). Al nacimiento el niño ha recibido trasplacentariamente IgG materna y presenta unos niveles y un patrón de especificidad comparable al de la madre. En prematuros estos valores están disminuidos de forma proporcional a la edad gestacional. Las cifras de IgG caen durante las primeras semanas de vida tras el parto, metabolizándose y siendo sustituida progresivamente por la producida. Otras inmunoglobulinas no atraviesan la placenta, aunque el feto es capaz de sintetizar IgA e IgM en respuesta a infecciones intrauterinas (Gronlund et al., 2000).

Después del nacimiento la leche materna es la responsable, no solo de alimentar, sino de suministrar elementos protectores, la mayoría de ellos células y factores solubles que están ausentes en el neonato (Martín et al., 2003). La colonización intestinal del neonato comienza inmediatamente tras el nacimiento y es esencial para la maduración del tejido linfoide asociado al intestino. Durante la etapa del amamantamiento es el único momento en que el ser humano recibe, no solo todos los nutrientes necesarios de un único alimento, sino que este cumple con los requisitos adecuados a la situación de inmadurez funcional del aparato digestivo, renal y del sistema inmunitario del niño pequeño (Bahl et al., 2005).

En el niño sano la introducción de fórmulas artificiales para la alimentación y de la alimentación complementaria en etapas posteriores constituyen los primeros retos inmunológicos y nutricionales a los que se enfrenta el lactante y niño pequeño.

A partir de los 6 meses de edad, las necesidades de energía y nutrientes comienzan a exceder lo aportado por la leche materna, a partir de ese momento la alimentación complementaria es necesaria para cubrir las necesidades de energía y de nutrientes.

En muchos países, el período de la alimentación complementaria, de los 6 a los 23 meses, es el momento donde existe un pico de enfermedades infecciosas, incidencia de retraso en el crecimiento y deficiencias de micronutrientes (Dewey y Adu-Afanwuah, 2008).

3. Principales patógenos alimentarios que afectan a lactantes y niños de corta edad

3.1 Patógenos bacterianos

Prácticamente cualquier microorganismo patógeno de transmisión alimentaria puede afectar a los niños de corta edad. Hay que diferenciar entre los lactantes (leche materna, preparados para lactantes o preparados de continuación), los que consumen alimentos triturados y los que tienen una alimentación completa.

Respecto a los preparados en polvo, el Comité de expertos FAO/OMS (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud) identifica tres categorías de microorganismos en base a la solidez de las pruebas de una relación causal entre su presencia en los preparados para lactantes y el desarrollo de enfermedad en éstos (FAO/OMS, 2004a, 2006):

1. Microorganismos con claras pruebas de causalidad. Estarían en esta categoría *Cronobacter* spp. y *Salmonella* spp.
2. Microorganismos para los cuales la causalidad es posible, es decir, producen enfermedad en lactantes y han sido encontrados en preparados, pero no se ha demostrado de forma convincente (epidemiológica o microbiológicamente) que el preparado contaminado sea la fuente de infección. Aquí se incluyen varias especies de la familia *Enterobacteriaceae*, como *Citrobacter* spp.
3. Microorganismos para los cuales la causalidad es menos probable, como aquellos que causan enfermedad en lactantes pero no se han identificado en los preparados o los que han sido aislados de preparados pero no se han implicado como agentes de enfermedad en lactantes. Dentro de este grupo se pueden citar *Escherichia coli*, *Serratia* spp., *Acinetobacter* spp., *Bacillus cereus*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*.

Además de los microorganismos reseñados en estos informes, también es importante considerar los datos concretos de los que disponemos referidos a nuestro país. El Sistema de Información Microbiológica (SIM) ofrece resultados de enfermedades de transmisión alimentaria distribuidos por grupos de edad y así, se puede observar que en los niños menores de 1 año, además de los microorganismos ya citados, aparecen reseñados *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* y *Yersinia enterocolitica*, junto con los protozoos *Cryptosporidium* y *Giardia lamblia* (SIM, 2015). Finalmente, se podrían incluir en este listado otros microorganismos que no se han mencionado pero que se

reconocen como causa importante de enfermedad pediátrica en países desarrollados, sobre todo *Shigella* spp., *Aeromonas caviae* y *Aeromonas hydrophila* (Wilcox et al., 1992) (van Pelt et al., 2003) (Koehler et al., 2006).

En el caso de los niños que tienen una alimentación sólida (en los estudios epidemiológicos es habitual separar el grupo de edad de niños entre 1 y 4 años), los microorganismos reflejados en el SIM y en estudios llevados a cabo en países desarrollados citan como más frecuentes *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Shigella* spp., algunos tipos patógenos de *E. coli* y *Listeria monocytogenes* (Van Pelt et al., 2003) (Koehler et al., 2006).

3.1.1 *Cronobacter* spp.

Cronobacter spp. es un género de bacterias Gram negativas perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, cuyos miembros son considerados patógenos oportunistas. Este género (anteriormente denominado *Enterobacter sakazakii* y reclasificado en 2007) está integrado en la actualidad por siete especies: *C. sakazakii*, *C. turicensis*, *C. malonaticus*, *C. muytjensii*, *C. dublinensis*, *C. universalis* y *C. condimentii*. Con los datos actuales, no se puede descartar a ninguna de las especies como carente de riesgo para neonatos y lactantes (FAO/OMS, 2008a).

Cronobacter causa una enfermedad grave en recién nacidos, que cursa con meningitis, septicemia y enterocolitis necrotizante, y que se ha relacionado frecuentemente con los preparados para lactantes (PPL). Los síntomas comienzan con fiebre, falta de apetito, llanto o apatía. En la población adulta, los síntomas pueden incluir fiebre, diarreas e infección de las vías urinarias. Si bien puede afectar a todos los grupos de edad, la inmensa mayoría de los casos se observan en bebés de menos de 28 días (EFSA, 2004). Los niños prematuros, con bajo peso al nacimiento o con inmunodeficiencia forman parte del grupo de alto riesgo. Se han descrito tasas de mortalidad del 40 al 80 % y los supervivientes padecen habitualmente secuelas neurológicas severas (Bowen y Braden, 2006) (Friedemann, 2009) (Holy y Forsythe, 2014). La enfermedad suele responder a la terapia con antibióticos, si bien varios autores han notificado una resistencia creciente (FAO/OMS, 2004a). Hasta 2008 se notificaron unos 120 casos en todo el mundo en niños de hasta 3 años de edad (FAO/OMS, 2008a), si bien se sospecha que pueden ser muchos más (Iversen y Forsythe, 2003). De éstos, 6 fueron diagnosticados en niños de 6 a 11 meses de edad y 2 en niños de 1 a 3 años (FAO/OMS, 2008a) y, en al menos 27 de ellos, el desenlace fue la muerte. A partir de la base de datos del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de Estados Unidos se podría estimar que se producen 6 nuevos casos de infección por *Cronobacter* cada año en todo el mundo (Healy et al., 2010).

Se cree que la principal vía de transmisión es la oral. No se ha determinado la dosis infectiva, pero se estima que puede ser baja (10-100 microorganismos). No obstante, su amplia distribución lleva a pensar que el consumo de bajos números de microorganismos en PPL y alimentos de continuación por parte de bebés y niños sanos no acarrea enfermedad (EFSA, 2004). La posible transmisión vertical se ha desestimado, al no aislarse el microorganismo del tracto intestinal o de la vagina de madres de niños infectados (Iversen y Forsythe, 2003). Tampoco se ha documentado la transmisión entre lactantes o a través del medio ambiente (FAO/OMS, 2004a). Hasta la fecha, no se han identificado los mecanismos moleculares específicos de la patogenicidad de *Cronobacter*,

si bien algunas cepas producen compuestos similares a las enterotoxinas (Pagotto et al., 2003). Además, parecen existir diferencias entre la virulencia de los aislamientos clínicos, ambientales y en alimentos (FAO/OMS, 2008a). El hecho de que el estómago de los recién nacidos y, en particular, de los prematuros, sea menos ácido que el de los adultos, podría contribuir a la supervivencia de *Cronobacter* en los lactantes.

Su temperatura mínima de crecimiento se encuentra entre 5,5 y 8 °C y la máxima entre 41 y 45 °C, si bien algunas cepas son capaces de multiplicarse a 47 °C, estimándose la temperatura óptima entre 37 y 43 °C, dependiendo del medio de cultivo (Iversen et al., 2004). Puede crecer a valores de pH entre 3,9 y 9,0 (Breeuwer et al., 2003) (Dancer et al., 2009) y a valores de actividad de agua de hasta 0,94 (Dancer et al., 2009). Además, muchas cepas producen un exopolisacárido que les permite crear biopelículas y resistir en condiciones adversas en distintas superficies (Iversen et al., 2004).

No existe consenso sobre si es más tolerante a los tratamientos térmicos que otras bacterias no formadoras de esporas. Se ha sugerido que *Cronobacter* es uno de los miembros más termorresistentes de la familia *Enterobacteriaceae* (Nazarowec-White y Farber, 1997b) (Dancer et al., 2009), si bien se ha demostrado que su resistencia al calor varía ampliamente entre las distintas cepas, encontrándose valores *D* comprendidos entre 0,1 y 15 min a 58 °C y valores *z* entre 3,1 y 10,9 °C en PPL y distintos medios de laboratorio (Nazarowec-White y Farber, 1997b) (Asakura et al., 2007) (Al-Holy et al., 2009) (Arroyo et al., 2009) (Dancer et al., 2009) (Osaili et al., 2009) (Huertas et al., 2015), encontrándose esta termorresistencia afectada por distintos factores, tales como el medio de cultivo, la fase de crecimiento o la aplicación de un choque térmico previo (Gadjosova et al., 2011).

Se considera un microorganismo ubicuo, habiéndose aislado de una gran variedad de fuentes, incluidos alimentos muy distintos, tanto de origen vegetal como animal, materias primas deshidratadas mezcladas, aguas residuales y distintos ambientes en hogares, hospitales y líneas de producción de alimentos (Norberg et al., 2012). Su prevalencia es mayor en alimentos deshidratados. Su principal ventaja competitiva frente a otros microorganismos causantes de enfermedades transmitidas por los alimentos con los que comparte límites de crecimiento aproximadamente similares en cuanto a temperatura, pH y actividad de agua, es su elevada resistencia a la desecación, que le hace especialmente relevante en ambientes secos, como los que se encuentran en los PPL y en las plantas de procesado. De hecho, se ha confirmado que *Cronobacter* es más resistente al estrés osmótico y a la desecación que otras enterobacterias (Breeuwer et al., 2003).

Los PPL y los preparados de continuación han sido asociadas epidemiológicamente a brotes de enfermedad causados por *Cronobacter*. Los procesos de fabricación de ambos tipos de alimentos son esencialmente idénticos, con la única diferencia de que en los preparados de continuación el número de ingredientes empleados es más amplio. Distintos estudios revelan su presencia a frecuencias variables, desde un 0 a un 14 % en PPL y otros alimentos para recién nacidos (Muytjens et al., 1988) (Nazarowec-White y Farber, 1997a) (Iversen y Forsythe, 2004) (Kandhai et al., 2010) (Sonbol et al., 2013) (Li et al., 2014) (Pan et al., 2014). En cualquier caso, *Cronobacter* está generalmente presente en los PPL a niveles muy bajos (entre 0,36 y 66,0 ufc/100 g) (Muytjens et al., 1988) (Forsythe, 2005). No obstante, según la FAO y la OMS, los niveles bajos de *Cronobacter* presentes en los PPL, incluso cuando son inferiores a 3 ufc/100 g, pueden dar lugar a infecciones (FAO/OMS, 2004a). Aun

así, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) destacó, ya en 2004, que la producción a gran escala de PPL y preparados de continuación, ambos distribuidos mundialmente, unido al número relativamente bajo de casos en neonatos y niños, son indicativos de que los productos son habitualmente seguros. Aunque los PPL constituyen la principal fuente de este microorganismo, no es la única, ya que se han diagnosticado casos en niños que no se alimentaron con PPL (Stoll et al., 2004). Además, se han documentado casos en adultos.

La contaminación de PPL con *Cronobacter* puede producirse durante el proceso productivo (Asakura et al., 2007). Existe un amplio consenso en que *Cronobacter*, a pesar de su elevada resistencia al calor, no es capaz de sobrevivir a los tratamientos de pasterización que se aplican habitualmente durante el procesado de los PPL. Así pues, la contaminación tiene lugar muy probablemente tras el tratamiento térmico (Iversen y Forsythe, 2004), bien por la adición de materias primas y nutrientes sensibles al calor (vitaminas, minerales, etc.) tras la pasterización, bien por contaminación a partir de equipos y líneas de procesado y envasado, o bien por manipuladores de alimentos portadores del microorganismo. Otra fuente de contaminación la constituyen los utensilios contaminados (tales como batidoras o cucharas) que se puedan emplear a nivel doméstico en la preparación de los PPL (Noriega et al., 1990).

Cronobacter no es capaz de multiplicarse en los PPL deshidratados, pero se ha mostrado capaz de sobrevivir durante procesos de deshidratación industrial (Arku et al., 2008) y distintos estudios han puesto de manifiesto su capacidad para sobrevivir en ambientes secos durante periodos prolongados de tiempo (Mullane et al., 2008) (Terragno et al., 2009). También se ha demostrado que es capaz de sobrevivir en PPL con actividad de agua tan baja como 0,2 durante periodos de hasta dos años y medio (Caubilla-Barron y Forsythe, 2007).

Los PPL reconstituídos constituyen, en cambio, un medio idóneo para su proliferación. Algunos estudios han encontrado que *Cronobacter* puede sobrevivir al estrés térmico aplicado cuando el PPL se reconstituye con agua templada (Asakura et al., 2007) (Osaili et al., 2009). La FAO y la OMS recomiendan la reconstitución de los PPL con agua a más de 70 °C para reducir el riesgo potencial de *Cronobacter* (FAO/OMS, 2006). Esto resultaría en una reducción de su población en 4-6 ciclos logarítmicos, en función del tipo de producto (Osaili et al., 2009). Además, se ha comprobado que su exposición a un calentamiento suave o a condiciones ácidas podrían repercutir en una mayor viabilidad durante la posterior rehidratación de los PPL a temperaturas más elevadas e incluso en las condiciones ácidas del estómago (Yang et al., 2015). Una vez que los PPL se reconstituyen, *Cronobacter* se puede multiplicar dependiendo de las condiciones de preparación y almacenamiento, por este motivo se recomienda almacenarlos a temperaturas inferiores a 5 °C (FAO/OMS, 2006).

El Reglamento (CE) Nº 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimentarios, y sus posteriores modificaciones, establece un límite microbiológico máximo de ausencia de *Cronobacter* en cada una de las 30 muestras (n=30) de 10 g para los preparados deshidratados para lactantes y alimentos dietéticos deshidratados destinados a usos médicos especiales para lactantes menores de 6 meses, durante toda la vida útil del producto (UE, 2005). En los preparados de continuación se establece un criterio de higiene de los procesos para enterobacterias, con ausencia en cada una de las cinco muestras

de 10 g tomadas al final del proceso de fabricación, y, en caso de obtener algún resultado positivo, hay que realizar análisis en busca de *Cronobacter* (Anexo I).

3.1.2 *Salmonella* spp.

Salmonella, al igual que *Cronobacter*, es una causa bien conocida de enfermedades, tales como diarrea, septicemia o meningitis, en lactantes (FAO/OMS, 2004a). Al igual que en los casos de *Cronobacter*, las tasas de salmonelosis en los lactantes son más elevadas que en otros grupos (Olsen et al., 2001), lo cual es indicativo de la mayor susceptibilidad de este grupo de población. Un estudio reciente que analizaba la incidencia de los cinco principales patógenos transmitidos por alimentos en Estados Unidos, determinó que *Salmonella* es la principal causa de enfermedades bacterianas en niños menores de 5 años (Scallan et al., 2013).

La infección sistémica es una complicación que aparece aproximadamente en el 5 % de los casos, siendo más frecuente en pacientes inmunodeprimidos, especialmente aquellos que presentan alteraciones de su inmunidad celular (Chen et al., 2013). La bacteriemia secundaria se asocia a manifestaciones extraintestinales como meningitis, encefalopatía, endocarditis, neumonía, abscesos, osteomielitis, celulitis o artritis. En niños de entre 0 y 6 años con bacteriemia, el riesgo de meningitis alcanza el 24 % (Sánchez-Vargas et al., 2011). Por otra parte, un estudio reciente relaciona los antecedentes de gastroenteritis por *Salmonella* en niños con un mayor riesgo de padecer síndrome del intestino irritable en la edad adulta (Cremon et al., 2014).

Los alimentos implicados con mayor frecuencia en la transmisión de *Salmonella* incluyen la leche y derivados sin pasteurizar, carne y carne de ave cruda o poco cocinada, huevos crudos o poco cocinados, brotes crudos (alfalfa, soja, rábanos), vegetales crudos y cualquier plato preparado con alguno de los anteriores, incluyendo ensaladas, postres, salsas, etc. (Wattiau et al., 2011).

Salmonella se ha aislado en ocasiones a partir de PPL (FAO/OMS, 2004a). Entre 1995 y 2006 se vincularon al menos seis brotes de salmonelosis a productos lácteos en polvo en distintos países (FAO/OMS, 2006). La contaminación de los PPL con bajos niveles de *Salmonella* fue suficiente para provocar la infección en los lactantes. En estos casos, fallos en el proceso productivo, por ejemplo la presencia de agua en zonas normalmente secas, que permitieron la multiplicación de *Salmonella*, o la presencia de *Salmonella* en zonas de difícil acceso o limpieza, fueron identificadas como origen de la contaminación (FAO/OMS, 2006).

No obstante, y a diferencia de otros brotes causados por *Salmonella*, no se ha podido demostrar de manera convincente desde un punto de vista epidemiológico o microbiológico que los PPL sean la fuente o el vehículo de la infección en casos esporádicos (FAO/OMS, 2004a). Además, en los estudios realizados sobre PPL, raramente se ha detectado *Salmonella*. En un estudio de Muytjens et al. (1988) no se encontró *Salmonella* en ninguna de las 141 muestras analizadas.

Tal y como ocurre con *Cronobacter*, *Salmonella* tampoco es capaz de multiplicarse en los PPL deshidratados, pero puede igualmente sobrevivir en ellos durante largos periodos de tiempo. Una vez reconstituido, el PPL es un medio óptimo para el crecimiento de *Salmonella*. El almacenamiento de los PPL reconstituidos a temperaturas inferiores a 5 °C evitaría igualmente la multiplicación de *Salmonella* (FAO/OMS, 2006).

Salmonella se excreta en las heces tras la infección durante un periodo de unas 5 semanas, que es más prolongado en niños menores de 5 años (Sánchez-Vargas et al., 2011). Como en el caso de todos los patógenos entéricos una buena higiene y las buenas prácticas en la manipulación de alimentos son clave para evitar la transmisión.

El Reglamento (CE) N° 2073/2005 establece un criterio microbiológico de seguridad alimentaria de ausencia de *Salmonella* en cada una de las 30 muestras (n=30) de 25 gramos para los preparados deshidratados para lactantes y alimentos dietéticos deshidratados destinados a usos médicos especiales para lactantes menores de 6 meses, así como en los preparados deshidratados de continuación, durante toda la vida útil de estos productos (UE, 2005) (Anexo I).

3.1.3 *Listeria monocytogenes*

Es una bacteria Gram positiva, no esporulada, que produce una enfermedad de transmisión alimentaria muy grave (FAO/OMS, 2004b).

En la Unión Europea (UE), la listeriosis es una enfermedad de transmisión alimentaria relativamente poco frecuente pero muy grave, en comparación con otros procesos transmitidos por alimentos, como la salmonelosis. Además, presenta elevadas tasas de morbilidad, hospitalización y mortalidad en grupos poblacionales vulnerables (EFSA, 2013). La tasa de mortalidad puede alcanzar el 20-30 %. *Listeria monocytogenes* es un patógeno oportunista que casi siempre afecta a personas con patologías subyacentes graves que cursan con inmunodepresión. En los neonatos la forma más grave y precoz es la granulomatosis infantiséptica, que cursa con abscesos y granulomas diseminados con especial predominio en hígado, bazo, pulmón y cerebro. Existe una forma neonatal más tardía y frecuente, que aparece entre la 1ª y 8ª semana de vida del niño, en la que el contagio probablemente se ha producido en el canal del parto. En ella el cuadro más frecuente es meningitis, con letargia, rechazo del alimento e irritabilidad.

Listeria monocytogenes está muy distribuida por el medio ambiente y puede contaminar los alimentos en diversas etapas de la cadena alimentaria. Los tratamientos térmicos habituales de preparación de alimentos (>65 °C) son suficientes para eliminarla, pero, debido a su ubicuidad, puede recontaminar los alimentos tras el procesado; esto, unido a su capacidad de desarrollarse a temperaturas de refrigeración, hace que algunos productos listos para el consumo, especialmente los que tienen una duración media o prolongada (semiconservas de pescado, productos cárnicos tratados térmicamente, quesos blandos), sean particularmente peligrosos (FAO/OMS, 2004b) (EFSA, 2013). El Reglamento (CE) N° 2073/2005 establece un criterio microbiológico de seguridad alimentaria para este microorganismo para los alimentos listos para el consumo destinados a lactantes en el que se exige la ausencia en 25 gramos del producto a lo largo de toda su vida útil (UE, 2005) (Anexo I). Para los alimentos listos para el consumo no destinados a lactantes el límite máximo es de 100 ufc/g durante la vida útil de los alimentos, teniendo en cuenta que el riesgo de desarrollo de listeriosis por la ingesta de alimentos contaminados con recuentos inferiores a este límite para la población en general es muy bajo (FAO/OMS, 2004b) (UE, 2005).

3.1.4 *Campylobacter* spp.

Campylobacter spp. es el principal agente zoonótico bacteriano a nivel mundial (EFSA, 2005) (Epps et al., 2013). Las especies del grupo termofílico (*C. jejuni* y *C. coli*) están muy extendidas por todo el medio ambiente y su reservorio principal se encuentra en el tracto digestivo de las aves y también de algunos mamíferos, como el cerdo y, en menor medida vacuno y otros rumiantes (EFSA, 2005). Su capacidad de supervivencia en el medio ambiente es limitada, ya que es incapaz de crecer por debajo de 30 °C y necesita concentraciones de oxígeno reducidas (5 % de forma óptima); además es sensible a la desecación, el cloruro sódico en concentraciones por encima del 2 %, pH inferior a 4,9 y numerosos desinfectantes, así como a los tratamientos térmicos de pasteurización o cocinado completo (Park, 2002). La mayor parte de las infecciones por *Campylobacter* son esporádicas y los brotes son infrecuentes. La carne de ave es la principal vía de transmisión de la enfermedad, bien por el consumo de carne contaminada insuficientemente cocinada o por contaminación cruzada a partir de ella (Acheson y Allos, 2001) (FAO/OMS, 2009). En los países desarrollados hay una distribución de casos con una tasa más elevada en niños menores de 1 año (Acheson y Allos, 2001) y en el caso de España, los datos del SIM muestran también un elevado número de casos en niños entre 1 y 4 años.

La campilobacteriosis cursa como una enfermedad gastrointestinal similar a la producida por otros patógenos entéricos y en la mayoría de los casos es autolimitada. Ocasionalmente pueden aparecer complicaciones gastrointestinales o sistémicas, que, aunque sean infrecuentes, se dan con mayor probabilidad en niños pequeños (EFSA, 2005). La mortalidad de la infección es baja; sin embargo, la posibilidad de que se desarrollen secuelas graves, como artritis reactiva o síndrome de Guillain-Barré, y las terribles consecuencias que estas secuelas pueden producir en la población infantil, obligan a extremar las precauciones para evitar su transmisión (EFSA, 2005).

En el caso de los neonatos, la mayoría experimenta una enfermedad moderada, aunque la infección evoluciona con mayor frecuencia que en los adultos hacia la sepsis neonatal o la aparición de meningoencefalitis. Esta última complicación, más frecuente en el caso de *C. fetus*, puede ser fatal o dejar secuelas neurológicas muy graves (Smith, 2002). En neonatos la mortalidad por *Campylobacter* alcanza el 2,5 % (McDonald y Gruslin, 2001).

Las medidas preventivas más eficaces en el hogar son las buenas prácticas de higiene personal (lavado de manos) y evitar la contaminación cruzada en la manipulación de alimentos crudos, con especial atención a la carne de ave.

3.1.5 *Escherichia coli*

Todos los grupos patógenos de *Escherichia coli* son agentes de enfermedad gastrointestinal en niños. Se sabe que la dosis infectiva en niños menores de 5 años es mucho menor que para los adultos. Además, se ha demostrado que el periodo de eliminación por heces una vez desaparecidos los síntomas es mayor que en los adultos, lo que implica un mayor riesgo de adquisición de la enfermedad en escuelas y guarderías (Woteki y Kineman, 2008). La mayor parte los grupos patógenos de *Escherichia coli* son infrecuentes en los países desarrollados, ya que su reservorio principal son los humanos y la transmisión está relacionada con la presencia de contaminación de

origen fecal en las aguas y la falta de medidas higiénicas en la preparación de alimentos (Nataro y Kaper, 1998) (Kaper et al., 2004). Sin embargo, las cepas productoras de toxinas Shiga (STEC/EHEC) y las cepas atípicas de *Escherichia coli* enteropatógeno (aEPEC) están asociadas a animales de abasto, principalmente ganado lechero, y se transmiten frecuentemente por alimentos de origen animal (Nataro y Kaper, 1998) (Trabulsi et al., 2002).

El 5-10 % de los pacientes infectados por EHEC desarrollan síndrome urémico hemolítico (SUH), con una mortalidad del 3-5 %. El SUH es la primera causa de fallo renal agudo en niños pequeños y se asocia a complicaciones neurológicas severas (convulsiones, coma, etc.) en el 25 % de los casos, y a fallo renal crónico en aproximadamente el 50 % de los supervivientes (Lim et al., 2010).

Los principales brotes de infección por EHEC se asocian al consumo de carne de vacuno poco cocinada, especialmente hamburguesas, derivados cárnicos poco cocinados como salami o salchichas, leche sin pasteurizar, brotes crudos, espinacas frescas, tomates, lechugas y zumo de manzana no pasteurizado (Ferens y Hovde, 2011). En este sentido, el consumo de leche cruda es una práctica de riesgo, ya que hay reseñados casos de SUH por esta causa en niños (Allerberger et al., 2003). Un estudio realizado en Francia sobre casos pediátricos de SUH durante un período de 1 año reveló que *Escherichia coli* O157 fue el principal agente de esta enfermedad y que la mayor incidencia se daba en niños menores de 1 año, seguidos del grupo de edad hasta 5 años (en conjunto, los niños menores de 5 años suponían el 81 % de los casos). Algunos de los casos de enfermedad también se relacionaron con el consumo de productos lácteos elaborados con leche cruda (Decludt et al., 2000). Los niños menores de 5 años también son más susceptibles al desarrollo de enfermedad como consecuencia de la transmisión secundaria en el hogar cuando hay personas que padecen gastroenteritis (Parry y Salmon, 1998). Por tanto, como medidas preventivas se debe evitar el consumo de alimentos crudos de origen animal y reforzar las buenas prácticas de higiene personal.

3.1.6 *Clostridium botulinum*

Clostridium botulinum es un bacilo Gram positivo anaerobio capaz de formar esporas. Se distinguen siete subtipos en función de la neurotoxina que producen, siendo cuatro de ellos los que provocan la enfermedad en humanos, y solo dos, el A y el B, los responsables de la mayoría de casos de botulismo infantil. El botulismo infantil afecta a niños con edades comprendidas entre menos de 1 semana y menos de 1 año, aunque el 95 % de los casos ocurren en niños de menos de 6 meses (AECOSAN, 2011).

El botulismo infantil tiene lugar cuando el niño ingiere esporas de *Clostridium botulinum*, tras lo cual germinan y se multiplican en el tubo digestivo, liberando la toxina botulínica que pasa al torrente sanguíneo. La toxina botulínica se une a los receptores colinérgicos de las terminaciones nerviosas en las uniones neuromusculares, impidiendo su normal funcionamiento. Se considera que la dosis infectiva mínima de *Clostridium botulinum* está comprendida entre 10 y 100 esporas (AECOSAN, 2011). La sintomatología incluye una combinación de hipotonía, debilidad y parálisis flácida de la musculatura esquelética, si bien es posible observar un amplio rango de presentaciones clínicas. Los niños son particularmente sensibles a la colonización por *Clostridium botulinum* debido a la inmadurez de su microbiota intestinal (Rosow y Strober, 2015).

En la mayoría de los casos de botulismo infantil la fuente de los esporas de *Clostridium botulinum* no se ha identificado (AECOSAN, 2011). En muchos pacientes en los que no se encontró el origen de la infección, se presume que podría ser el resultado de la inhalación de esporas adheridas a partículas de polvo microscópico presentes en el aire. Así, los niños que residen en zonas rurales tienen un mayor riesgo de contraer botulismo infantil que los de las áreas urbanas, presumiblemente por su mayor exposición a las partículas de polvo (Rosow y Strober, 2015).

En un caso de botulismo infantil ocurrido en Reino Unido se sospechó entre otros alimentos, de un PPL, si bien no se obtuvieron resultados concluyentes sobre su vinculación (Anon, 2001). De hecho, no se ha confirmado ningún caso de botulismo infantil a partir de PPL o alimentos de continuación (EFSA, 2004). No obstante, *Clostridium botulinum* se ha encontrado de manera ocasional en mieles, las cuales son un ingrediente habitual de los alimentos de continuación (Rosow y Strober, 2015). Los datos epidemiológicos actuales permiten considerar que el riesgo de padecer la enfermedad es bajo en niños menores de 12 meses si se evita el consumo de miel y/o infusiones de especies vegetales (AECOSAN, 2011).

3.1.7 *Clostridium difficile*

Clostridium difficile es la principal causa de diarrea nosocomial en adultos en países desarrollados, si bien su prevalencia en niños de menos de 2 años no está clara, ya que coloniza frecuentemente su tracto intestinal, habitualmente sin manifestaciones clínicas, lo que dificulta su diagnóstico (Santiago et al., 2015). La colonización del tracto intestinal por parte de *Clostridium difficile* se produce poco después del nacimiento y aumenta progresivamente durante el primer año, sobrepasando el 70 % de los niños menores de 2 años (Enoch et al., 2011).

En los casos de niños infectados en los que aparecen síntomas, éstos cursan con una diarrea ligera y autolimitante, si bien en grupos de riesgo puede derivar en una colitis pseudomembranosa (Enoch et al., 2011). La frecuencia de presentación de *Clostridium difficile* en niños hospitalizados con diarrea es de tres casos por cada 1 000 admisiones hospitalarias (Enoch et al., 2011) (Santiago et al., 2015), siendo especialmente destacada en niños de menos de 2 años y con otra enfermedad subyacente o a los que se ha administrado antibióticos.

Entre las vías de transmisión se citan especialmente la materna, la infección cruzada entre pacientes y a través del ambiente (Enoch et al., 2011), pero no se ha relacionado con la ingesta de PPL contaminados.

3.1.8 *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens es una especie anaerobia aerotolerante, Gram positiva esporulada productora de diversas toxinas. La mayoría de toxiinfecciones alimentarias son causadas por el tipo toxigénico A, aunque menos del 5 % de las cepas de *Clostridium perfringens* son portadoras del gen responsable de la producción de la enterotoxina A (cpe). El tipo toxigénico C causa una enteritis necrotizante severa poco frecuente.

La toxiinfección por *Clostridium perfringens* cursa como una gastroenteritis autolimitada con diarrea acuosa, malestar general y dolor abdominal, de baja mortalidad. Los niños y los ancianos son más susceptibles que la población general (McClane et al., 2013).

Las esporas sobreviven a la refrigeración y congelación con una reducción de menos de 1 logaritmo después de 6 meses. El calentamiento a 70 °C durante 2 minutos durante el cocinado destruye las células vegetativas, pero no las esporas.

La enterotoxina se produce durante la fase de esporulación. Dado que se trata de una proteína termolábil, que se inactiva a 60 °C durante 5 minutos, la intoxicación raramente se produce por ingestión de toxina preformada. Clásicamente, la enfermedad aparece cuando un alimento contaminado con esporas e insuficientemente cocinado se enfría lentamente. Las esporas germinan y las células vegetativas se reproducen hasta alcanzar la dosis infectiva. Cuando el alimento es ingerido se produce la esporulación en el intestino y la liberación de la enterotoxina (McClane et al., 2013).

Clostridium perfringens es ubicuo y se distribuye extensamente en suelo, polvo y vegetación. También coloniza el intestino de seres humanos y animales. La principal fuente de infección son alimentos cárnicos y las aves de corral poco cocinados y manipulados deficitariamente, que están implicadas hasta en el 90 % de los brotes (Grass et al., 2013). La prevención pasa por una cocción completa y un almacenamiento adecuado de los platos hasta su consumo (McClane et al., 2013).

La bacteria no se ha relacionado con la aparición de brotes por consumo de PPL. En algún trabajo se ha detectado la presencia de altas concentraciones de *Clostridium perfringens* en el intestino de recién nacidos pretérmino que desarrollaron enterocolitis necrotizante (De la Cochetiere et al., 2004). Sin embargo, no está claro si su presencia se relaciona con la aparición de la enfermedad o es una consecuencia de la disbiosis que la acompaña (Cilieborg et al., 2012).

3.1.9 *Yersinia* spp.

El género *Yersinia* está actualmente constituido por 18 especies de bacterias Gram negativas, pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*. Dentro de este género se incluyen dos especies enteropatógenas, que son *Y. pseudotuberculosis* y algunos tipos de *Y. enterocolitica*; aunque esta última es la que se asocia a infecciones humanas con más frecuencia, la incidencia de *Y. pseudotuberculosis* ha aumentado en algunas partes del norte de Europa (EFSA, 2007). *Y. enterocolitica* es una bacteria psicrófila, capaz de multiplicarse a temperaturas de refrigeración y se divide en seis biotipos (1A, 1B, 2, 3, 4 y 5) caracterizados por sus propiedades bioquímicas. Todas las cepas patógenas son portadoras de un plásmido de virulencia, denominado pYV y, en función de la presencia de otros factores de virulencia, se distinguen tres tipos patógenos: de alta patogenicidad, de patogenicidad moderada y no patógenas (EFSA, 2007) (Robins-Browne, 2007). En Europa se aíslan principalmente cepas de patogenicidad moderada, correspondientes a los serotipos O:3 (biotipo 4) y O:9 (biotipo 2), con una incidencia alta en niños menores de 5 años (Rosner et al., 2012). La infección cursa como una gastroenteritis con diarrea que se autolimita, pero puede dar lugar a complicaciones graves, como infecciones agudas recurrentes, pseudoapendicitis y septicemia, o secuelas a largo plazo, como artritis reactiva (EFSA, 2007) (Bottone, 2015). Se considera que el cerdo es el principal reservorio de cepas patógenas y el consumo de carne de cerdo y productos derivados que no han sido tratados térmicamente de un modo adecuado es una causa frecuente de aparición de casos esporádicos (Rosner et al., 2012). También se ha relacionado con leche y productos lácteos pasteurizados, pero contaminados tras el tratamiento térmico, posiblemente por el

uso de agua contaminada (EFSA, 2007). En un amplio estudio llevado a cabo en Alemania por Rosner et al. (2012) se observó que el consumo de carne de cerdo picada poco cocinada era el principal factor de riesgo en la aparición de casos de yersiniosis y la preparación en el hogar contribuye a incrementar este riesgo. Teniendo en cuenta estos aspectos, la principal medida preventiva sería la educación de los consumidores sobre los peligros asociados al consumo y manipulación de los productos derivados del cerdo.

3.1.10 *Citrobacter* spp.

Las especies del género *Citrobacter* pueden causar infecciones en neonatos y en niños y adultos inmunodeprimidos (Doran, 1999). Son bacterias Gram negativas, pertenecientes a la familia de las enterobacterias, y que tienen una distribución amplia, encontrándose en el tracto gastrointestinal del hombre y de los animales, y también en el medio ambiente (suelo, agua y alimentos).

Citrobacter freundii ha provocado varios brotes nosocomiales y en uno de ellos, ocurrido en una unidad de cuidados intensivos para neonatos, el vehículo de transmisión fue un PPL, aunque la fuente de contaminación del mismo no se llegó a dilucidar (Thurm y Gericke, 1994). En general se considera que la infección se transmite verticalmente desde la madre al neonato, pero hay grandes lagunas en el conocimiento de estas vías de transmisión. La enfermedad que produce puede tener consecuencias muy graves, desarrollando frecuentemente sepsis y meningitis, con tasas de mortalidad que alcanzan el 30 % (Doran, 1999).

3.1.11 *Shigella* spp.

Las bacterias del género *Shigella* son enterobacterias que producen una enfermedad gastrointestinal grave, shigelosis, caracterizada por cursar con diarrea sanguinolenta que puede desembocar en disentería. Aunque puede producir enfermedad en cualquier individuo, la mayor frecuencia se da en niños menores de 4 años (Lampel y Maurelli, 2007). El reservorio principal son los humanos, por lo que su transmisión se produce por la vía fecal-oral y persona a persona, pudiendo contaminar prácticamente cualquier alimento (Warren et al., 2006). Teniendo en cuenta estos aspectos y la baja dosis infectiva que presentan, la prevención pasa por el respeto a las buenas prácticas higiénicas.

3.1.12 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus es un microorganismo Gram positivo, esporulado y con una distribución muy amplia en el medio ambiente. Es un contaminante frecuente de la leche, a la que accede a través de la contaminación ambiental y de los equipos de ordeño. El proceso de producción de leche en polvo y productos similares puede no ser suficiente para inactivar todas las esporas; adicionalmente muchas cepas son de naturaleza psicrotrofa, capaces de multiplicarse en condiciones de refrigeración. Todo ello hace que este tipo de productos presenten porcentajes elevados de contaminación, aunque los recuentos son generalmente bajos (Becker et al., 1994). Además, también está presente en cereales utilizados en alimentación infantil (Becker et al., 1994) (Granum y Lund, 1997). La ingestión de un número bajo de células o esporas no se considera perjudicial, pero la germinación de esporas o la multiplicación de células vegetativas en el alimento preparado puede dar lugar a

una concentración peligrosa del microorganismo (superior a 10^5 ufc/g) (Kramer y Gilbert, 1989). Por todo ello, pese a que no se han reportado brotes de enfermedad asociados a leche en polvo u otros productos de alimentación infantil, es posible que la manipulación incorrecta de estos productos (principalmente el abuso de temperatura de alimentos reconstituidos) permita el desarrollo de este microorganismo (Becker et al., 1994) (EFSA, 2004). En la UE existe un criterio de higiene de los procesos para los preparados deshidratados para lactantes y alimentos dietéticos deshidratados destinados a usos médicos especiales para lactantes menores de 6 meses con un plan de muestreo de tres clases ($n=5$, $c=1$, $m=50$ ufc/g y $M=500$ ufc/g), que se considera satisfactorio si, al final del proceso de fabricación, las cinco muestras ($n=5$) presentan valores inferiores o iguales a 50 ufc/g (m), aceptable si una de esas cinco muestras ($c=1$) presenta recuentos entre 50 (m) y 500 ufc/g (M) e insatisfactorio si una de esas cinco muestras presenta valores superiores a 500 ufc/g o más de una de esas cinco muestras presenta valores entre 50 y 500 ufc/g (UE, 2005) (Anexo I). De forma preventiva se recomienda el consumo rápido de los alimentos cocinados o su refrigeración inmediata, minimizando el tiempo de permanencia en el intervalo de temperatura 10-50 °C (Kramer y Gilbert, 1989).

3.1.13 *Aeromonas* spp.

El género *Aeromonas* comprende especies de bacterias Gram negativas, de distribución muy amplia, aunque generalmente se relacionan con el medio acuático. Aparece como contaminante en aguas de consumo y en numerosos alimentos de diversos orígenes, incluida la leche y los productos lácteos (Isonhood y Drake, 2002) (Janda y Abbott, 2010). Algunas especies se consideran patógenas para los humanos, produciendo casos esporádicos de enfermedad gastrointestinal que ocasionalmente puede dar lugar a complicaciones extraintestinales (Wilcox et al., 1992) (Janda y Abbott, 2010). *Aeromonas caviae* es la especie más importante como agente de enfermedad en niños, sobre todo menores de 3 años, con un pico estacional en los meses más cálidos (Wilcox et al., 1992). Debido a las lagunas que existen en el conocimiento sobre las vías de transmisión de este microorganismo es difícil establecer medidas preventivas, pero es importante prestar especial atención al uso de agua potable, sobre todo en los meses cálidos, en la preparación de todos los alimentos que vayan a ser consumidos por niños.

3.1.14 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus es una bacteria que produce una intoxicación alimentaria leve y se relaciona frecuentemente con la leche y los productos lácteos (Le Loir et al., 2003). Hay reseñados algunos brotes importantes relacionados con leche en polvo, aunque no afectaron a niños pequeños, y se atribuyeron a las deficiencias higiénicas y abuso de temperaturas en la leche líquida, antes del secado (Anderson y Stone, 1955) (Asao et al., 2003).

Por otra parte, se está prestando atención a las infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), por su capacidad de resistencia a antibióticos β -lactámicos y la gravedad de las enfermedades que puede producir, sobre todo en pacientes hospitalizados o inmunodeprimidos (Doyle et al., 2012). En los últimos años se han descrito brotes de intoxicación

alimentaria producidos por MRSA, que aunque no implica mayor virulencia de la enfermedad, despierta la preocupación por la diseminación de estos microorganismos, que pueden producir infecciones graves y difíciles de tratar (Jones et al., 2002). También se han detectado cepas de MRSA en los animales de abasto que se pueden transmitir a los alimentos derivados, pero no parece que el riesgo de enfermedad humana se incremente por este motivo (EFSA, 2009).

Las medidas preventivas son bien conocidas y se centran en la formación de los manipuladores en prácticas higiénicas y en el uso correcto de los tratamientos térmicos y mantenimiento de las condiciones de refrigeración (Doyle et al., 2012).

3.1.15 Otros microorganismos

Otras especies de la familia *Enterobacteriaceae*, como *Citrobacter diversus*, *Citrobacter koseri*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pantoea agglomerans*, *Escherichia vulneris*, *Hafnia alvei*, *Serratia marcescens* y *Enterobacter cloacae*, se han encontrado igualmente en PPL, pero no se ha demostrado de manera convincente que, desde el punto de vista epidemiológico o microbiológico, los PPL sean el vehículo y la fuente de la infección (FAO/OMS, 2004a). Estas especies, no obstante, tienen cada vez más importancia como patógenos neonatales y deberían también ser considerados como patógenos oportunistas (EFSA, 2004).

También se ha atribuido a los PPL la vehiculización de una cepa de *Bacillus licheniformis* productora de una toxina de características similares a la toxina emética de *Bacillus cereus* (EFSA, 2004). Tampoco en estos casos se pudo demostrar claramente la relación con los PPL.

3.2 Principales patógenos víricos alimentarios

Los virus entéricos son virus de transmisión fecal-oral y pueden estar presentes en alimentos y aguas que hayan sufrido contaminación con materia fecal. Entre ellos destacan diversos agentes causantes de gastroenteritis como los Norovirus (NoV), Sapovirus (SaV), Astrovirus (AstV), Rotavirus (RV) y Adenovirus (AdV), así como los agentes de las hepatitis entéricas (A y E), causantes de hepatitis aguda (Koopmans y Duizer, 2004) (Newell et al., 2010) (BIOHAZ, 2011). Con menor frecuencia, a través de agua y alimentos también pueden transmitirse infecciones de enterovirus, los cuales pueden causar distintas manifestaciones clínicas, desde diarrea a meningitis o sarpullidos (Muehlenbachs et al., 2015). Por lo general, todos ellos son patógenos de mayor incidencia en la población infantil, a excepción del virus de la hepatitis A (HAV), el cual en niños menores de 6 años suele causar infecciones asintomáticas. Aparte de los virus citados, otros virus como el de la gripe aviar, el virus de la encefalitis transmitida por garrapatas, el virus MERS o el virus Nipah se han incluido también en algunos informes como virus potencialmente transmisibles por alimentos a la población general (FAO/OMS, 2008b). Aunque el impacto de estos virus sobre la salud podría ser importante, no los comentaremos en el presente informe por la baja frecuencia con la que se podrían llegar a producir casos. Nos centraremos en los virus productores de gastroenteritis y hepatitis.

Los alimentos que presentan un mayor riesgo de estar contaminados de origen con algún patógeno vírico son los moluscos bivalvos, las verduras frescas que se consumen en ensalada y las frutas tipo baya que han sido irrigados con aguas contaminadas con materia fecal. Todos estos alimen-

tos suelen consumirse crudos o poco cocinados, incrementando al máximo el riesgo de infección. En ocasiones también se comercializan en forma congelada, sin que ello disminuya el riesgo de transmitir la infección. Recientemente, debido a que determinadas cepas del virus de la hepatitis E pueden infectar animales como el cerdo o el jabalí, entre otros, se han documentado casos de adultos contagiados por consumo de carne de cerdo o de caza, cruda o poco cocinada (Van der Poel, 2014). Finalmente, cualquier otro alimento puede también contaminarse por una manipulación higiénica deficiente por parte de manipuladores, tanto sintomáticos como asintomáticos, excretores de virus. Puesto que las dosis infectivas de los patógenos víricos son muy bajas, a pesar de que un virus nunca podrá multiplicarse en el alimento, niveles mínimos de contaminación pueden ser suficientes para transmitir la infección.

Por lo tanto, si se desea extremar las precauciones para prevenir este tipo de infecciones en niños de corta edad deberemos evitar alimentarlos con estos alimentos a no ser que estén completamente cocinados, y hay que tener en cuenta que la congelación no disminuye el riesgo de una infección vírica. Por otro lado, en el hogar, las buenas prácticas de higiene personal (lavado de manos) y evitar la contaminación cruzada en la manipulación de alimentos crudos son esenciales.

3.2.1 Rotavirus

Los rotavirus del grupo A son la primera causa de hospitalización por gastroenteritis en niños de corta edad y causan más de 450 000 muertes en niños menores de 5 años en países en vías de desarrollo (Ruggeri y Fiore, 2012). En estos países se estima que prácticamente todos los niños sufren una infección por rotavirus antes de los 2 años. Desde 2006, muchos países recomiendan la vacunación contra rotavirus a los niños de corta edad con alguna de las dos vacunas atenuadas disponibles (RotaTeq® de Merck y Rotarix® de GlaxoSmithKline), pero en la mayoría de países es una vacuna optativa y su precio es elevado. Desde 2009, la OMS recomienda la inclusión de esta vacuna en los programas de inmunización de todos los países. A pesar de la gran diversidad de cepas circulantes, parece que tanto la infección como la vacunación protegen contra gastroenteritis futuras por la mayoría de las cepas víricas que circulan en la población (Jiang et al., 2010) (Wang et al., 2010), aunque tampoco se descarta que en adultos se puedan producir infecciones asintomáticas.

A pesar de su impacto, las vías de transmisión distintas de la transmisión persona-persona no se han caracterizado en detalle, pero se sabe que rotavirus es un virus muy estable en el medio ambiente, en aguas, sobre alimentos y sobre superficies. En los países en vías de desarrollo rotavirus puede transmitirse por agua con contaminación fecal y la utilización de biberones reconstituidos con agua de poca calidad parece una fuente de contagio probable. Por otro lado, puesto que los adultos sanos pueden actuar como reservorio, es importante también extremar las buenas prácticas de higiene personal durante la preparación de alimentos para niños de corta edad. A pesar de que muchas de las cepas que circulan actualmente tienen un origen zoonótico, se cree que la transmisión de rotavirus de animales al hombre no ocurre con frecuencia.

En los países con climas templados las infecciones por rotavirus en niños presentan una marcada estacionalidad con mayor incidencia en los meses fríos. Aunque la mayoría de casos declarados son infecciones esporádicas, también se han documentado brotes epidémicos en colegios, guarde-

rías, hospitales y geriátricos. La fuente de contagio en algunos de estos brotes ha sido el agua de bebida contaminada con una elevada carga viral debido a una contaminación accidental (Gallay et al., 2010) (Räsänen et al., 2010). Alimentos contaminados tras la cocción también se han reportado como causa de un brote en un sanatorio de madres e hijos en Alemania (Mayr et al., 2009).

3.2.2 Norovirus (NoV)

Después de rotavirus, los NoV se consideran la segunda causa más común de gastroenteritis aguda no bacteriana en niños, y debido al uso de la vacuna contra rotavirus en muchos países, es posible que pronto lleguen a ocupar el primer puesto. Se estima que en países industrializados causan el 12 % de las hospitalizaciones por gastroenteritis en niños menores de 5 años. En países en vías de desarrollo se estima que causan 218 000 muertes infantiles (Patel et al., 2008). Los NoV afectan a todos los grupos de edad y su incidencia es elevada en todo el mundo, tanto en forma de brotes epidémicos como casos esporádicos, que muchas veces se infravaloran por falta de datos. La mayoría de infecciones no suelen ser graves y se resuelven pasadas unas 24-60 horas. Algunos estudios lo señalan como el agente causante de más del 50 % de todas las toxiinfecciones alimentarias (Scallan et al., 2011) (Robilotti et al., 2015.). En cuanto a los brotes, distintos estudios indican que el porcentaje de brotes que son de origen alimentario oscila entre el 12 y el 54 % (FAO/OMS, 2008b) (Sabria et al., 2014), pero existen pocos datos acerca de cuál sería este porcentaje teniendo en cuenta únicamente las infecciones infantiles. El mayor brote alimentario en Europa durante el año 2012 fue un brote de NoV en Alemania asociado al consumo de fresas congeladas, que afectó a casi 11 000 individuos, la mayoría de ellos en edad escolar y preescolar.

En comparación con los niños de entre 2 y 4 años, en niños menores de 2 años se ha observado una mayor duración de la gastroenteritis (7 días versus 3,5 días) y una mayor gravedad (Murata et al., 2007). En neonatos se han descrito infecciones por NoV que se han complicado hasta enterocolitis necrotizante, causando la muerte en algunos casos (Turcios-Ruiz et al., 2008) (Stuart et al., 2010). En uno de estos brotes, una de las cuidadoras reportó haber tenido síntomas de gastroenteritis los días próximos al brote (Turcios-Ruiz et al., 2008).

3.2.3 Otros virus productores de gastroenteritis

Siguiendo a rotavirus y norovirus, existe una lista muy larga de otros virus causantes de gastroenteritis aguda en niños, entre los cuales los mejor conocidos son los Adenovirus entéricos (tipos 40 y 41), los Astrovirus y los Sapovirus (Koopmans y Duizer, 2004) (Carter, 2005). Además, durante los últimos años se han descubierto otros agentes etiológicos de gastroenteritis infantiles como los Aichivirus (Kitajima y Gerba, 2015) o los Picobirnavirus (Ganesh et al., 2012). La mayoría suelen causar gastroenteritis únicamente en niños, y aunque los adultos también pueden sufrir infección, muchas veces suele ser asintomática. Existen pocos estudios sistemáticos que aporten datos sobre la prevalencia de cada uno de estos agentes como causa de gastroenteritis en niños, sobre todo debido a que muchos únicamente se identifican a nivel de laboratorios de investigación y a que el diagnóstico tampoco se hace por igual en todos los países (Guarino et al., 2008). Al igual que para rotavirus y NoV, suelen presentar también una mayor incidencia durante los meses fríos y aunque son virus de

transmisión fecal-oral, el papel que juegan los alimentos en la transmisión de la infección no está bien documentado. Puesto que la mayoría puede causar infecciones asintomáticas, una posible vía de transmisión es por manipulación de alimentos durante su preparación cuando las normas de higiene personal son deficientes. Aunque el estudio no se remitía exclusivamente a virus, entre los principales factores de riesgo en niños con gastroenteritis en países industrializados se identificaron los siguientes: viajes recientes al extranjero, contacto con personas sintomáticas (en especial en guarderías), hospitalización, contacto con perros con diarrea, consumo de productos que contienen leche en polvo, bajo nivel educativo de los padres y diagnóstico anterior de distintos tipos de enfermedades atópicas (Ethelberg et al., 2006). Para las gastroenteritis víricas, el contacto con individuos sintomáticos fue el factor de riesgo más importante.

3.2.4 Virus causantes de hepatitis agudas

Las hepatitis agudas que pueden tener un origen alimentario son las causadas por el virus de la hepatitis A (HAV) y el virus de la hepatitis E (HEV).

En países en vías de desarrollo, el HAV es endémico y la mayoría de niños se infectan de forma asintomática quedando inmunizados de por vida (Pintó et al., 2010). Según la OMS, únicamente el 10 % de los niños menores de 6 años sufren ictericia. En países industrializados con estándares mayores de higiene, el virus ya no circula y cada vez es más frecuente incluir la vacunación contra HAV en el calendario sistemático de inmunización. El Comité Asesor de Vacunas de la Asociación Española de Pediatría recomienda la vacuna contra HAV en determinados grupos de riesgo, y desde el año 2015, la vacuna se utiliza de forma universal en Cataluña y en las ciudades de Ceuta y Melilla. Entre las medidas de prevención para el HAV destacarían la vacunación de los niños por un lado, así como también el evitar dar alimentos de riesgo que estén crudos. Puesto que el virus ya no circula en la mayoría de países industrializados, es poco probable que los alimentos nacionales lleguen a contaminarse, pero el riesgo es significativo si hablamos de alimentos importados de regiones endémicas (Collier et al., 2014) (Guzmán-Herrador et al., 2014) (Terio et al., 2015). Además, también cabe estar alerta al aumento de casos sintomáticos en niños menores de 5 años que se ha observado en nuestro país asociados a un determinado genotipo del virus (D'Andrea et al., 2015).

Los datos sobre si las infecciones por HEV en niños son también asintomáticas no son concluyentes. Mientras que en la página web de la OMS se indica que las infecciones en niños suelen ser asintomáticas (OMS, 2005), según otras fuentes las infecciones por HEV cursan con sintomatología y pueden ser especialmente graves en niños menores de 2 años (Sayed et al., 2015). Las infecciones por HEV en regiones endémicas se transmiten principalmente por la ruta fecal-oral, a menudo en forma de brotes de origen hídrico, pero en países desarrollados no endémicos como Europa, el número de infecciones autóctonas está incrementando y se cree que esto es en parte debido a la transmisión de determinados genotipos que también infectan cerdos y otros animales (Hoofnagle et al., 2012). Así, el HEV se considera hoy en día un patógeno zoonótico de transmisión alimentaria emergente. Aunque el consumo de productos derivados del cerdo poco cocinados está descrito como un factor de riesgo para la hepatitis E, se desconoce qué porcentaje de infecciones tendrían este origen (BIOHAZ, 2011). Finalmente, aunque

en China existe una vacuna contra HEV aprobada desde 2012, ésta no se comercializa aún en ningún otro país. Las mejores estrategias de prevención siguen siendo el consumo de alimentos bien cocinados y manipulados siguiendo unas buenas normas de higiene. Además de los productos derivados del cerdo, y del mismo modo que ocurre con los otros virus entéricos, el virus HEV también se ha detectado en alimentos en contacto con agua contaminada fecalmente como el marisco, las frutas tipo baya y ensaladas, y la mala gestión de purines o estiércol de cerdo o su utilización como fertilizantes también podría aumentar el riesgo de contaminación de los cultivos (BIOHAZ, 2011).

3.3 Principales parásitos

Las principales vías de transmisión de los parásitos patógenos son el agua y la contaminación persona-persona a través de la ruta fecal-oral. De acuerdo con los datos del SIM, los protozoos parásitos pertenecientes a los géneros *Cryptosporidium* y *Giardia* se encuentran dentro de los agentes de enfermedad de transmisión alimentaria que afectan al grupo de edad 1-4 años. También se ha observado en España que los niños de corta edad pueden ser portadores asintomáticos frecuentes de estos microorganismos (Mateo et al., 2014).

El cuadro clínico causado por otros parásitos de transmisión alimentaria no es significativamente diferente en niños al que presentan los adultos, y el pronóstico de la enfermedad parece relacionarse más con el estado inmunitario del paciente que con la edad del mismo. Así, por ejemplo, la toxoplasmosis congénita, es una infección trasplacentaria del feto y las medidas de prevención se dirigen fundamentalmente a las madres gestantes. El seguimiento de las buenas prácticas higiénicas en la preparación de alimentos y el cocinado completo de los mismos es la medida preventiva más eficaz para evitar estos peligros.

3.3.1 *Cryptosporidium*

Cryptosporidium parvum y otras especies de este género son los agentes de la criptosporidiosis, una enfermedad gastrointestinal que se caracteriza por cursar con diarrea y molestias abdominales y que puede prolongarse durante varias semanas. El ciclo de vida del protozoo se completa en un solo huésped y culmina con la eliminación de ooquistes maduros (es decir, plenamente infecciosos) por las heces. Estos ooquistes pueden contaminar las aguas y permanecer viables durante períodos prolongados de tiempo (hasta 6 meses) o transmitirse por contacto directo o a través de la manipulación incorrecta de los alimentos (Nichols, 2000) (Dawson, 2005).

La mayor parte de los casos de criptosporidiosis en España se dan en los meses cálidos, posiblemente asociado al uso recreativo de las aguas, y el grupo de edad más afectado son los niños entre 0 y 4 años (Semenza y Nichols, 2007). Se han registrado algunos brotes que afectan a niños en edad preescolar, como el ocurrido en Guadarrama en 1998, asociado al consumo de agua de traída deficientemente tratada (Rodríguez et al., 2000).

Los quistes son bastante resistentes a los desinfectantes, sobre todo los basados en cloro. También son parcialmente resistentes a la congelación hasta -20 °C. Los tratamientos más efectivos para su eliminación son la desecación y el tratamiento térmico (cocinado completo de los alimen-

tos, pasterización, ebullición del agua), además de las buenas prácticas higiénicas en el hogar (Doyle, 2003) (Dawson, 2005).

3.3.2 *Giardia*

Giardia intestinalis (también denominado *G. lamblia* o *G. duodenalis*) es el parásito intestinal más frecuente en los países desarrollados, con cerca de 1 000 casos declarados anualmente en España, de acuerdo con los datos del SIM. La giardiasis se produce como consecuencia de la ingestión de quistes, que se transmiten por la vía fecal-oral, bien a través de aguas contaminadas, de alimentos manipulados incorrectamente o por el contacto directo con personas portadoras (Doyle, 2003) (Dawson, 2005). La enfermedad cursa con síntomas gastrointestinales (náuseas, diarrea) acompañados de dolor abdominal, hinchazón y flatulencia. La diarrea puede durar varios días o semanas e ir acompañada de pérdida de peso.

En nuestro país, los niños de menos de 5 años de edad son el grupo de edad más afectado. Además, varios brotes registrados de giardiasis han ocurrido en escuelas y centros educativos, principalmente por transmisión directa persona-persona, aunque también ha habido brotes relacionados con el consumo de agua (Carmena, 2012).

Los quistes de *Giardia* son bastante resistentes a los tratamientos de cloración, aunque menos que los de *Cryptosporidium*, y por tanto es de aplicación lo ya comentado respecto a los tratamientos para la eliminación de este último (Doyle, 2003) (Dawson, 2005).

4. Riesgos microbiológicos de la lactancia materna

La leche materna no es un producto estéril y contiene con frecuencia bacterias que se encuentran en la piel materna. La lactancia materna en un niño sano lleva consigo la saludable colonización bacteriana de éste. La lactancia materna es el método óptimo de alimentación del lactante. La OMS recomienda la lactancia materna exclusiva hasta los 6 meses de edad, y acompañada de alimentos complementarios apropiados hasta los 2 o más años de edad.

En la práctica, son muy pocas las infecciones que contraindican la lactancia (Díaz-Gómez, 2005). La presencia de infección clínica en una madre lactante presupone generalmente que el niño está ya expuesto al mismo tiempo a ese patógeno, el cese del amamantamiento no tiene, pues, efecto preventivo y no debe recomendarse de rutina. En términos generales las enfermedades comunes, bacterianas, fúngicas y víricas si no comprometen la salud materna no constituyen contraindicación para la lactancia.

4.1 Principales patógenos que pueden transmitirse a través de la leche materna

A continuación se repasan algunos de los principales tipos de enfermedad infecciosa que pueden desaconsejar la lactancia. Se puede clasificar entre unas pocas contraindicaciones y unas situaciones que deben valorarse individualmente. Las recomendaciones incluidas en este apartado no deben sustituir, en ningún caso, las instrucciones del pediatra.

4.1.1 Enfermedades bacterianas

4.1.1.1 Brucelosis

Se puede transmitir a través de la leche humana. Si la madre ha sido diagnosticada cuando ya ha comenzado la lactancia es muy probable que el niño esté contagiado y ambos necesiten tratamiento. No hay acuerdo sobre la necesidad de suspender la alimentación al pecho hasta que finalice el tratamiento (Díaz-Gómez, 2005).

4.1.1.2 Enfermedad de Lyme

Si bien la espiroqueta *Borrelia burgdorferi* se ha aislado en leche materna no se ha comprobado la transmisión de la enfermedad. Si se diagnostica tras el parto debe iniciarse tratamiento inmediatamente así como al niño si se presenta síntomas. Una vez iniciado el tratamiento materno puede continuarse con la lactancia.

4.1.1.3 Infecciones bacterianas graves

Cuando la madre sufre un cuadro de sepsis u otra infección grave, los gérmenes pueden pasar a la leche, pero el niño también recibe a través de ella anticuerpos frente al microorganismo causante de la infección, así como antibióticos administrados a la madre. Es razonable establecer que la afectación del estado general materno debe primar sobre el mantenimiento del amamantamiento de forma transitoria o permanente. Si la enfermedad produce una importante afección del estado general de la madre se puede suspender la lactancia durante las primeras fases del tratamiento, continuándola después, a juicio del médico (Díaz-Gómez, 2005).

4.1.2 Enfermedades víricas

Cuando la madre sufre una infección vírica, el virus pocas veces se transmite a la leche materna y representa un riesgo para el bebé. Aparte de la transmisión a través de la leche, el bebé también podría contagiarse al mamar por el contacto directo con lesiones en el pecho y el pezón. No obstante, solo en caso de enfermedades potencialmente graves para el bebé se considerará interrumpir la lactancia materna.

La tabla 1 resume los principales patógenos víricos que presentan un potencial riesgo de transmitirse por estas vías y para los cuales se dispone de información (Lanari et al., 2012) (Civardi et al., 2013). La decisión siempre debe sopesarse frente a los numerosos e importantes beneficios que supone la lactancia materna para el niño, teniendo en cuenta el riesgo de transmisión y la gravedad de la posible enfermedad. En países en vías de desarrollo, los beneficios de la lactancia materna siempre compensan cualquier riesgo a excepción de madres infectadas por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) pero únicamente en determinadas circunstancias. En estos países se calcula que la lactancia materna reduce en más de un 20 % el riesgo de mortalidad por otras causas (Edmond et al., 2006). En los países industrializados, la mortalidad por malnutrición y otras infecciones es muchísimo menor, y la lactancia materna está contraindicada en determinados casos: la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y el virus linfotrópico de células T humano (HTLV) (AAP, 2012). Si se considera necesaria la interrupción temporal de la lactancia, se

aconsejará a la madre que se extraiga la leche de forma manual o con sacaleches con frecuencia, para no cortar la producción y poder reanudar la alimentación al pecho sin problemas.

En determinadas circunstancias es posible recurrir a bancos de leche materna para alimentar al bebé. Las mujeres que han dado positivas para el VIH, el virus de la hepatitis B ó C, el HTLV o la sífilis, o aquellas que presentan un riesgo mayor para la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob no deberían donar leche materna (NICE, 2010).

El riesgo de transmisión del VIH a través de la leche materna oscila entre el 15 y el 44 % y recientemente se ha visto que un tratamiento con antirretrovirales reduce el riesgo de transmisión (OMS, 2007). En países industrializados, la lactancia está contraindicada en madres seropositivas para el VIH, pero en países en vías de desarrollo esto no es siempre así. Desde 2010, la OMS recomienda que si las mujeres infectadas por el VIH pueden recibir un tratamiento con antirretrovirales, den el pecho hasta que el bebé tenga 12 meses (OMS, 2010).

El riesgo de transmisión del virus linfotrópico de células T humano de tipo 1 (HTLV-I) a través de la leche también es elevado, de alrededor del 20 % cuando la lactancia dura 6 meses o más (Moriuchi et al., 2013). Este virus es un retrovirus oncogénico que infecta los linfocitos T CD4 y que puede acabar induciendo linfomas y mielopatías (Moriuchi et al., 2013). Se estima que 10-20 millones de personas están infectadas, concentradas en Japón, África Central y Occidental, el Caribe, América Central y América del Sur, y se calcula que el riesgo de sufrir un linfoma de células T del adulto entre los individuos infectados es del 5 %. La transmisión vertical de HTLV ocurre principalmente a través de la leche materna, pero al igual que ocurre con el VIH, únicamente se desaconseja interrumpir la lactancia materna por este motivo en países industrializados y en situaciones en las que puede garantizarse una correcta nutrición del bebé mediante lactancia artificial.

Aunque la transmisión de citomegalovirus (CMV) a través de la leche materna también se ha demostrado, con datos que oscilan entre el 4 y el 38 % (Hamprecht et al., 2001) (Hayashi et al., 2011) (Lanzieri et al., 2013), la mayoría de infecciones en los niños son asintomáticas. La probabilidad de infección y enfermedad por CMV en niños que nacen a término es muy baja, probablemente gracias a la transferencia de anticuerpos contra el virus durante el embarazo. Las únicas situaciones en las que la lactancia en madres seropositivas estaría contraindicada serían en niños prematuros o niños que nacen con un peso inferior a 1,5 kg (Lanzieri et al., 2013), en los cuales, las infecciones por CMV pueden ocasionar hepatopatía, trombocitopenia, neutropenia, petequias, el síndrome de dificultad respiratoria y el síndrome sepsis-like.

Para otras infecciones de la misma familia, como por ejemplo el virus herpes simplex o el virus de la varicela, únicamente se desaconseja la lactancia en casos en los que la infección de la madre sea muy reciente, como por ejemplo, en el caso de que existan lesiones herpéticas en los pechos de la madre o pezones agrietados. Si la madre se infecta por varicela 5 días antes del parto o 2 días después, se aconseja mantener al bebé alejado de ella para disminuir el riesgo de contagio, pero no hay problema en extraer su leche y alimentar al bebé. Frente a infecciones de la madre con el virus de la rubeola o el sarampión la situación sería parecida, aunque existen muchos menos datos disponibles. En general la lactancia únicamente se desaconsejaría durante una infección primaria de la madre, cuando las concentraciones de virus en la leche pueden ser mayores. Tampoco existe

ningún riesgo elevado en vacunar a las madres lactantes contra infecciones como la varicela, la rubeola, las paperas o el sarampión, vacunas que son todas ellas atenuadas. Aunque existen pocos estudios recientes sobre el tema, en algunos casos se ha demostrado que el virus atenuado puede transmitirse a través de la leche al niño, pero no se han reportado infecciones graves en los lactantes (Alain et al., 2012).

Aunque el riesgo de transmisión del virus de la hepatitis B ó C a través de la leche no es cero, no se han reportado casos de transmisión de estas infecciones a través de la leche. El Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) y la Academia Americana de Pediatría (AAP) consideran que las infecciones por estos virus no contraindican la lactancia materna, aunque también se ha señalado que sería prudente suspender temporalmente la lactancia si la madre infectada tiene grietas con sangrado en los pezones. Los niños nacidos de madres infectadas con el virus de la hepatitis B deberían recibir inmunización pasiva y activa contra el virus en las 12 primeras horas de vida. La segunda dosis se debería administrar a los 1-2 meses, y la tercera a los 6 meses, pero no existe la necesidad de retrasar la lactancia materna hasta que el bebé esté completamente inmunizado.

En mujeres embarazadas infectadas por HEV, la infección puede transmitirse al feto y causar una mortalidad elevada (Krain et al., 2014), pero no se ha reportado ningún caso de transmisión a través de la leche materna y por lo tanto la lactancia no está contraindicada. Además, los anticuerpos presentes en la leche materna pueden contribuir a proteger al niño de la infección. La situación podría ser similar para el HAV, y en ningún caso se desaconsejaría la lactancia.

Finalmente, para madres infectadas con el virus West Nile (WNV) los datos que existen también son muy escasos. La transmisión a través de la leche no puede descartarse, pero los únicos casos en los que se ha confirmado, no se ha detectado enfermedad sintomática en el lactante (Hinckley et al., 2007).

Tabla 1. Patógenos que potencialmente pueden transmitirse al bebé a través de la leche materna y que están mejor documentados			
Patógeno	Presencia en la leche materna	Riesgo de transmisión	Indicación lactancia materna
Patógenos bacterianos			
<i>Brucella</i> spp. (brucelosis)	Sí	Posible	Desaconsejada si la madre no recibe tratamiento
<i>Borrelia burgdorferi</i> (enfermedad de Lyme)	Sí	Muy Bajo	Desaconsejada en países industrializados si la madre no recibe tratamiento
Patógenos víricos			
VIH	Sí	Considerable	Desaconsejada en países industrializados
HTLV (I y II)	Sí	Considerable	Desaconsejada en países industrializados
Citomegalovirus (CMV)	Sí	Considerable	Aconsejada excepto en niños prematuros o con alguna inmunodeficiencia, y en madres con infección primaria en curso
Varizella Zoster Virus (VZV)	Sí	Posible	Aconsejada excepto si existen lesiones en los pezones
Herpes Simplex Virus (HSV)	n.d.	n.d.	Aconsejada excepto si existen lesiones herpéticas en los pechos
Virus Hepatitis B (HBV)	Sí	Bajo	Aconsejada excepto en madres con infección primaria en curso
Virus Hepatitis C (HCV)	Sí	Bajo	Aconsejada excepto en caso de lesiones en los pezones y madres con infección primaria en curso
Virus Hepatitis A (HAV)	n.d.	Muy Bajo	Aconsejada
Virus West Nile (WNV)	Sí	Muy bajo	Aconsejada

n.d.: información no disponible. **Adaptado de:** (Civardi et al., 2013).

4.1.3 Otros patógenos no transmitidos por la leche materna que potencialmente pueden transmitirse al bebé durante el amamantamiento. Recomendaciones sobre la conveniencia de la lactancia materna

En ocasiones, debido al estrecho contacto entre la madre y el bebé, determinadas infecciones de la madre pueden transmitirse al bebé por vías distintas a la leche materna, como por ejemplo por vía respiratoria o por vía fecal-oral. Aunque se deben extremar las precauciones y las medidas de higiene para evitar el contagio, la mayoría de infecciones agudas comunes no contraindican la lactancia. En el caso de que la madre se extraiga la leche y ella o cualquier otra persona deba manipularla, es importante seguir las buenas prácticas de higiene de manipulación de alimentos, sobre todo en casos en los que existan síntomas de infección. En la tabla 2 se resume la información disponible acerca de las recomendaciones sobre la conveniencia de la lactancia materna en situaciones de infección de la madre.

4.1.3.1 Abscesos mamarios y mastitis

La mastitis o el absceso mamario no deben constituir una indicación absoluta de retirada. En mama abscesificada y con dolor y pus se puede continuar transitoriamente con el otro pecho, evacuando el pecho afectado.

4.1.3.2 Tuberculosis activa no tratada

El bacilo de la tuberculosis no se ha aislado en la leche materna. La transmisión es por vía respiratoria. Si la tuberculosis se diagnostica durante el embarazo, debe iniciarse el tratamiento de inmediato, para evitar el riesgo de contagio. Si se diagnostica al final de la gestación o después del parto, existe controversia sobre si se debe separar al niño de la madre. La OMS aconseja no separarlos y administrar al niño isoniacida durante 6 meses si la madre llevaba menos de 2 meses de tratamiento en el momento del parto; mientras que la Asociación Americana de Pediatría y otros autores recomiendan la separación madre-hijo hasta que hayan transcurrido las 2 primeras semanas de tratamiento y la madre ya no sea contagiosa (Díaz-Gómez, 2005).

4.1.3.3 Toxiinfecciones alimentarias

No existe evidencia de que estas enfermedades se transmitan por la leche materna a no ser que cursen con bacteriemia. Por otra parte, el lactante ya ha estado expuesto al contagio por su contacto con la madre durante el periodo prodrómico. Cuando la madre se encuentra en el periodo sintomático ha formado anticuerpos que le puede transmitir a su hijo a través de la leche, protegiéndolo frente a la infección o disminuyendo la gravedad de los síntomas. En estos casos, se puede continuar con la alimentación al pecho y administrar tratamiento a la madre, si lo requiere. Durante el periodo de infectividad la madre deberá extremar las medidas de higiene personal.

La única contraindicación aparecería si la intoxicación es sistémica (fiebre entérica por *Salmonella*, por ejemplo); en ese caso se recomienda evitar la lactancia materna.

4.1.3.4 Infecciones respiratorias

Cuando se contraen estas enfermedades, el cuerpo de inmediato produce anticuerpos que pasan directamente a la leche materna. La transmisión se produce por vía respiratoria, no a través de la leche, por lo que se deberán tomar medidas de prevención (mascarillas, lavado de manos, etc.) sin que sea necesario evitar la lactancia.

4.1.3.5 Enfermedades cutáneas o de transmisión sexual

Prácticamente ninguna de las enfermedades de transmisión sexual se transmite a través de la leche materna. La presencia de lesiones cutáneas de sífilis o herpes en el pecho o en el pezón contraindica la lactancia materna, ya que pueden contener treponemas o virus (Díaz-Gómez, 2005).

No existe indicación de interrumpir la lactancia, ni siquiera de forma temporal, en caso de infecciones urinarias u otras enfermedades, siempre que el estado general de la madre lo permita y respetando la valoración médica (Lamounier et al., 2004).

4.1.3.6 Malaria

La lactancia debe continuarse si las condiciones clínicas de la madre lo permiten. Debe mantenerse precaución con la medicación antimalárica que es compatible con el amamantamiento salvo en casos de déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, G6PD, con retirada de quinina.

4.1.3.7 Enfermedad de Chagas

La transmisión del *Trypanosoma* a través de leche materna es excepcional. El tratamiento térmico inactiva al parásito por lo que tras la extracción puede utilizarse este procedimiento en fase aguda de la enfermedad seguido de su administración posterior.

4.1.3.8 Escabiosis

Infestación cutánea por el parásito *Sarcoptes scabiei* o arador de la sarna. Muy contagiosa por contacto directo mantenido. Cuando se diagnostica a la madre o al lactante lo más probable es que ambos la padezcan, por lo que no tiene objeto separarlos. Si la sarna es diagnosticada justo en el momento del parto, conviene aislar al recién nacido de la madre durante el primer día mientras hace efecto la dosis del tratamiento, manteniendo la lactancia por medio de extracción manual o con sacaleches y administrando al recién nacido lo extraído. Se deben tratar todas las personas infectadas y convivientes para evitar reinfecciones.

4.1.3.9 Candidiasis

La candidiasis vaginal puede producir una colonización en el niño. Debe ser tratada con antifúngicos en la madre pero con las debidas medidas de higiene no está indicada la retirada de la lactancia materna.

Tabla 2. Otras infecciones que potencialmente pueden transmitirse al bebé durante el amamantamiento y recomendaciones sobre la conveniencia de la lactancia materna

Recomendaciones	
Bacterias	
Mastitis y abscesos	Continuar alimentación al seno extremando precauciones higiénicas. Puede ser necesario descartar leche del seno infectado
Tuberculosis	Posponer lactancia hasta que la madre haya recibido al menos 2 semanas de tratamiento
Infección urinaria	Continuar alimentación al seno
Infección pared abdominal postcesárea	Continuar alimentación al seno
Diarrea bacteriana	Continuar alimentación al seno extremando precauciones higiénicas
Otras infecciones bacterianas sin compromiso general	Continuar alimentación al seno extremando precauciones higiénicas
Parásitos	
Malaria	Continuar alimentación al seno
Enfermedad de Chagas	Continuar alimentación al seno
Otros parásitos, escabiosis	Evitar contacto cutáneo seno-boca hasta curación. Extremar precauciones higiénicas
Hongos	
	Continuar alimentación al seno extremando precauciones higiénicas

4.1.4 Resumen: contraindicaciones de la lactancia materna

Se puede clasificar entre unas pocas contraindicaciones y unas situaciones que deben valorarse individualmente.

4.1.4.1 Contraindicaciones

VIH, virus de leucemias humana de células T, citomegalovirus en neonatos pretérminos.

4.1.4.2 Valoración individualizada

Tuberculosis activa, herpes simple, hepatitis C, brucelosis, enfermedad de Lyme, infecciones bacterianas graves, sífilis, varicela, sarampión, rubeola, parotiditis, malaria, enfermedad de Chagas, escabiosis.

4.1.4.3 Falsas contraindicaciones

Infecciones comunes, hepatitis A, hepatitis B, mastitis o absceso mamario, candidiasis vaginal.

4.1.4.4 Inmunizaciones

La lactancia no constituye una contraindicación para la administración de las vacunas, sin embar-

go su oportunidad es discutible salvo necesidades puntuales (tétanos). Parece innecesario o poco apropiado salvo en casos de lactancias muy prolongadas y riesgo alto para la madre de contraer la enfermedad.

4.2 Recomendaciones higiénicas sobre la manipulación y conservación de la leche materna

La leche materna se puede extraer manualmente o con la ayuda de un sacaleches para su posterior utilización, garantizando su conservación adecuada a temperatura ambiente, en refrigerador o en congelador, en función del tiempo que deba transcurrir hasta que se administre al bebé. La ducha diaria suele ser suficiente para garantizar la higiene de los pechos, pero sí es importante lavarse bien las manos siempre antes de la extracción. La extracción de la leche debe realizarse en un lugar higiénico y tranquilo; los baños no son lugares seguros a tal efecto. En caso de utilizar un sacaleches, todas las piezas del extractor de leche y los recipientes de recogida y almacenamiento de la leche deben limpiarse y desinfectarse antes de su uso, siguiendo las indicaciones del fabricante. El sacaleches debe ser de uso personal. Según el Comité de Lactancia Materna de la Asociación Española de Pediatría, la leche materna extraída puede conservarse a una temperatura de 4 °C durante 8 días, a 19-22 °C durante 10 horas, a 25 °C entre 4-6 horas, y a 30-38 °C máximo 4 horas (AEP, 2012). Para su almacenamiento es recomendable utilizar envases de vidrio correctamente lavados o bolsas comerciales destinadas a tal efecto. Lo ideal es enfriar rápidamente la leche extraída (en un recipiente con agua fría) y después congelarla lo antes posible. Si se realiza la extracción en casa y la leche no se va a utilizar ese mismo día, lo mejor es congelarla. Si se realiza la extracción fuera de casa, puede conservarse en una neverita portátil con frigolines y congelarla en cuanto se llegue a casa. En caso de que la leche estuviera contaminada de forma intrínseca o extrínseca con algún microorganismo patógeno, la congelación reduciría la contaminación, pero no la eliminaría completamente.

La leche se puede descongelar sumergiendo el recipiente en otro con agua caliente, o a temperatura ambiente, y siempre es preferible evitar el uso del microondas porque la distribución de la temperatura no es uniforme. En caso de que la leche materna deba ser transportada hasta una guardería o escuela infantil, ésta debería haber sido extraída o descongelada ese día o el día anterior y mantenerse refrigerada durante su transporte y durante el tiempo necesario hasta ser administrada.

5. Prácticas de riesgo en la preparación y manipulación de preparados de leche en polvo para lactantes (PPL), y medidas de higiene para minimizar dichos riesgos

5.1 Factores de riesgo microbiológico en PPL

La prevención y lucha eficaces contra las enfermedades de origen alimentario se basan en identificar los peligros vinculados a la producción, tratamiento y preparación de los alimentos, evaluar sus riesgos y determinar las operaciones en las que resulten eficaces ciertos métodos de control. En este sentido, resulta esencial el conocimiento de los factores que contribuyen a causar brotes de

enfermedades alimentarias así como el conocimiento de los resultados de investigaciones aplicadas sobre la ecología, multiplicación e inactivación de los patógenos transmitidos por los alimentos (Bryan, 1992).

En general el riesgo de enfermedades de transmisión alimentaria (ETAs) se relaciona con cuatro factores principales (Bryan, 1992):

1. Propiedades del alimento, en relación a su historia epidemiológica y a sus características y posibilidades para permitir la supervivencia y el desarrollo de patógenos.
2. Operaciones de preparación, en relación a los métodos que suelen aplicarse en su fabricación y manipulación posterior para conseguir la inactivación de patógenos o impedir su proliferación.
3. Volumen de alimento preparado, en relación al tiempo y a las condiciones de mantenimiento que puedan favorecer el desarrollo bacteriano durante el periodo que media entre la preparación y el consumo.
4. Susceptibilidad del consumidor, en relación a la población de destino que pueda incluir poblaciones de alto riesgo.

Los actuales procesos de fabricación de preparados para lactantes (PPL) y preparados de continuación no permiten garantizar que éstos sean estériles. Tanto la FAO como la OMS y la EFSA encuentran que el principal vector de riesgo asociado al uso de PPL en la alimentación neonatal es *Cronobacter*, si bien también se ha detectado la presencia de otros microorganismos como *Salmonella* (EFSA, 2004) (FAO/OMS, 2006). Se ha notificado la presencia de otros microorganismos en PPL, como *Citrobacter freundii*, si bien no se ha podido demostrar que dichos PPL sean el vehículo y la fuente de la infección (FAO/OMS, 2004a). Existen otros microorganismos que causan enfermedades en lactantes, pero no se han encontrado en PPL. Tal es el caso de *Clostridium botulinum* o *Clostridium difficile* (FAO/OMS, 2004a).

5.2 Vías de contaminación de los PPL

Los grupos de trabajo de expertos FAO/OMS (2004a, 2006) establecidos para evaluar el riesgo de microorganismos patógenos en preparados de leche en polvo para lactantes (PPL), identificaron diferentes tipos de microorganismos asociados a la contaminación de estos productos: *Cronobacter* spp., *Salmonella enteritidis*, *Enterobacter agglomerans*, *Hafnia alvei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Serratia* spp., *Acinetobacter* spp., *Bacillus cereus*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus* spp. No obstante, concluyeron que los patógenos más preocupantes son *Cronobacter* y *Salmonella*. Por ello el estudio que se expone a continuación hace referencia preferentemente a estos dos patógenos entendiendo que la mayoría de las consideraciones establecidas son aplicables a otros agentes patógenos potencialmente presentes en los PPL.

La contaminación microbiana de los PPL puede ocurrir por dos vías: intrínseca, durante el proceso de elaboración y/o extrínseca, durante la reconstitución y manipulación del preparado en polvo.

La Red Internacional de Autoridades de Inocuidad de los Alimentos (INFOSAN, 2005) señala que en el 50-80 % de los casos, la fórmula infantil en polvo es tanto la fuente como el vehículo de la infección producida por *Cronobacter*, y en el 20-50 % es el vehículo, pero la fuente de origen es la falta de higiene durante la reconstitución y manipulación.

Al contrario que ocurre con *Cronobacter*, es poco probable que los casos de salmonelosis en lactantes se deban a una contaminación intrínseca de los PPL (FAO/OMS, 2004a).

5.2.1 Contaminación intrínseca

Aunque existen fórmulas infantiles líquidas estériles, los preparados de leche en polvo para lactantes (PPL) son los productos más utilizados como fuente de alimentación de este grupo poblacional. Los procesos de fabricación que se aplican actualmente no garantizan la obtención de un preparado en polvo estéril sin alterar sus propiedades nutricionales, y por consiguiente, su inocuidad microbiológica depende del cumplimiento estricto de las buenas prácticas de higiene durante todo el proceso de fabricación.

Para garantizar la inocuidad del producto durante su vida útil, las empresas que elaboren preparados deshidratados para lactantes y alimentos dietéticos deshidratados destinados a usos médicos especiales para lactantes menores de 6 meses, deben cumplir los criterios de seguridad alimentaria relativos a *Cronobacter* y *Salmonella* establecidos en el Reglamento (CE) N° 2073/2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios y sus posteriores modificaciones. Ello establece un límite máximo de ausencia de *Cronobacter* en cada una de las 30 muestras de 10 g y de ausencia de *Salmonella* en cada una de las 30 muestras de 25 g (Anexo I).

Este Reglamento establece también criterios microbiológicos de higiene del proceso relativos a Enterobacteriáceas (ausencia en cada una de las 10 muestras de 10 g) y presuntos *Bacillus cereus* ($n=5$, $c=1$, $m=50$ ufc/g y $M=500$ ufc/g) que deben cumplir las industrias al final del proceso de fabricación (Anexo I), así como la obligación de éstas de tomar muestras de equipos y zonas de trabajo para garantizar el cumplimiento de dichos criterios microbiológicos.

Un estudio reciente (Parra et al., 2015) informa de recuentos de aerobios mesófilos considerados inaceptables ($>10\ 000$ a $<50\ 000$ ufc/g) en el 8 % de las muestras de PPL procedentes de diferentes países (Chile, México y Holanda). Asimismo, destaca los recuentos de enterobacterias obtenidos en siete muestras leche en polvo para prematuros con <100 ufc/g (dos muestras), de 100 a 500 ufc/g (cuatro muestras) y 1 000 ufc/g (una muestra). Además se identificó *Cronobacter sakazakii* en dos lotes de leche para lactantes producida en Chile.

La presencia de enterobacterias en las PPL refleja condiciones deficientes de higiene en el entorno de fabricación y se ha demostrado que se relaciona con la presencia de patógenos asociados a infecciones en lactantes (Reich et al., 2010), por lo que su ausencia debe ser considerada como un factor de seguridad, especialmente en el caso de productos destinados a la alimentación de niños prematuros, recién nacidos de bajo peso e inmunocomprometidos.

Diversas revisiones publicadas en los últimos años (FAO/OMS, 2004a) (Gurtler et al., 2005) (Strydom et al., 2012) (Holy y Forsythe, 2014) (Huertas et al., 2015) incluyen referencias bibliográficas que revelan la presencia de *Cronobacter* en PPL comerciales, con prevalencias que oscilan entre

el 0 y el 18 %. En el periodo 2006-2009, *Cronobacter* fue detectado en porcentajes del 0,4 % (Eslovaquia) y del 5 % (Austria) en PPL dispuestos para la venta en países de la Unión Europea (Helwich et al., 2012).

La detección del patógeno en envases de PPL sin abrir demuestra la vía de contaminación intrínseca durante el proceso de fabricación del producto (Holy y Forsythe, 2014).

Si bien los niveles de contaminación detectados en la mayoría de los casos son inferiores a 1 ufc/g, la positividad de *Cronobacter* en PPL es considerada un riesgo significativo de infección teniendo en cuenta, por una parte, la baja dosis infectiva asociada a este patógeno (10-100 organismos) y el consumo de cantidades variables de leche varias veces al día y, por otra, la facilidad de proliferar en el producto rehidratado.

La FAO/OMS (2004a) estimó que una disminución significativa de la frecuencia de la contaminación de los preparados en polvo para lactantes podía reducir el riesgo relativo de *Cronobacter* entre cuatro o cinco veces.

Al contrario que ocurre con *Cronobacter*, raramente se ha detectado *Salmonella* en los preparados en polvo para lactantes (Muytjens et al., 1988). Sin embargo, los PPL también han estado implicados en brotes de salmonelosis en niños. Sirva de ejemplo el brote de gastroenteritis por *Salmonella* Poona declarado en España en 2010-2011, el cual se asoció con significación estadística al consumo de dos marcas de leche en polvo fabricadas en la misma empresa, aunque los resultados analíticos llevados a cabo en el entorno de producción fueron negativos para *Salmonella* (ISCIII, 2011).

Asimismo, se ha sugerido que la contaminación intrínseca del producto ha sido la causa de otros brotes de salmonelosis en lactantes, siendo común a todos ellos el bajo nivel de *Salmonella* detectado en la leche implicada, lo que hace más difícil su detección en los controles rutinarios (Cahill et al., 2008).

Los PPL se fabrican a partir de diversos ingredientes: leche, proteína de soja, hidratos de carbono, grasas, minerales y vitaminas entre otros, mediante tres tipos de procesos diferentes: proceso de mezcla en húmedo, proceso de mezcla en seco y proceso combinado.

Dependiendo del proceso aplicado se pueden identificar diversos factores de riesgo que potencialmente derivarían en la contaminación del producto obtenido. Entre estos factores se incluyen los siguientes:

5.2.1.1 Tratamiento térmico

En el proceso de mezcla en húmedo todos los ingredientes se manejan en fase líquida, se someten a tratamiento térmico de pasteurización y posteriormente a secado hasta obtener el producto en polvo.

Diversos estudios ponen de manifiesto que el tratamiento de pasteurización aplicado en el proceso de elaboración de PPL es suficiente para inactivar *Cronobacter sakazakii* y otras enterobacterias presentes (Fu et al., 2011), si bien se ha demostrado que la resistencia al calor de este patógeno puede variar en función de la cepa, el pH, la actividad de agua y el estrés térmico (Arroyo et al., 2009). Por otra parte, las combinaciones de tiempo y temperatura utilizadas para lograr la pasteurización deberían tener en cuenta propiedades del producto como el contenido de grasas, la materia

seca o los sólidos totales, por la posible repercusión que pudieran tener sobre la resistencia térmica de los microorganismos patógenos objeto de interés.

En uno de los estudios más recientes (Huertas et al., 2015) se establecieron tratamientos de 58 °C /2,99 minutos o 62 °C/0,17 minutos para conseguir una reducción de 5 logaritmos de una cepa de *Cronobacter sakazakii* especialmente tolerante al estrés.

Asimismo, el tratamiento térmico aplicado en el proceso de fabricación de PPL se considera suficiente para la inactivación de otros microorganismos patógenos vegetativos como *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* o *Staphylococcus aureus*, mientras que los patógenos esporulados como *Bacillus cereus* y *Clostridium botulinum*, se inactivan en parte, dependiendo de las condiciones de elaboración (FAO/OMS, 2004a).

Considerando que los procesos de pasteurización utilizados en el proceso de fabricación mediante la mezcla en húmedo son de magnitud suficiente para eliminar los patógenos, la contaminación del producto con *Cronobacter* o *Salmonella* en este tipo de proceso se debe a una nueva contaminación posterior al tratamiento térmico (FAO/OMS, 2004a).

5.2.1.2 Ingredientes añadidos durante el proceso de fabricación

En el proceso de mezcla en seco, los ingredientes preparados por separado se mezclan en seco hasta conseguir la formulación del producto, y en el proceso combinado, algunos de los ingredientes se incorporan a la mezcla líquida y se someten al proceso térmico de pasteurización, mientras que otros ingredientes como las vitaminas, minerales o hidratos de carbono, se añaden después del tratamiento térmico, en la fase de mezclado.

En ambos casos el fabricante no puede garantizar la inactivación microbiana en los ingredientes añadidos, los cuales se convierten en una fuente potencial de contaminación del producto. *Cronobacter* se ha aislado de diferentes ingredientes tales como leche desnatada en polvo, lactosa, lecitina, pero es el almidón el que presenta la mayor tasa de prevalencia (FAO/OMS, 2004a).

En estos casos, la seguridad del producto final depende del cumplimiento riguroso por parte de los proveedores, de las normas de higiene y seguridad alimentarias necesarias para garantizar que los ingredientes cumplan los mismos requisitos microbiológicos exigidos a los preparados en polvo ya terminados.

5.2.1.3 Entorno de elaboración durante el secado o envasado

Tras el tratamiento térmico el principal factor de riesgo de contaminación se refiere al entorno de elaboración durante las fases en seco del proceso (secado y envasado). Durante el proceso de secado, la mezcla líquida se seca de manera casi instantánea en el aire caliente, el polvo resultante se enfría, tamiza y transporta a silos de almacenamiento o directamente a las operaciones de envasado. Todo este proceso constituye un factor de riesgo de contaminación, especialmente en el caso de los patógenos más ubicuos como *Cronobacter*.

Aunque todavía se desconoce el reservorio habitual de *Cronobacter*, el hecho de haber sido aislado de una gran variedad de ambientes (alimentos, instalaciones de producción de leche en polvo y en otras plantas de producción de alimentos y hogares) refleja su carácter ubicuo.

Diversos estudios ponen de manifiesto el riesgo de recontaminación con *Cronobacter* a partir del entorno de elaboración. En un estudio llevado a cabo por Reich et al. (2010) se analizaron un total de 867 muestras obtenidas de 12 localizaciones diferentes de una planta de procesado de PPL, detectándose *Cronobacter* en 33 muestras de polvo recogidas en instalaciones implicadas en el proceso de secado hasta el envasado; por el contrario las 175 muestras de superficies analizadas dieron resultados negativos. No obstante, en todas las muestras analizadas se encontraron *Enterobacteriaceae* con <100 ufc/g excepto en siete localizaciones que mostraron recuentos >500 ufc/g, coincidiendo en cinco de ellas con resultado positivo a *Cronobacter*.

Otros estudios advierten de la importancia que tiene la correcta instalación y mantenimiento de los filtros de aire (Mullane et al., 2008), o la limpieza y desinfección de las partes externas del equipo y el entorno que circunda las líneas de procesado (Craven et al., 2010), para reducir la diseminación de *Cronobacter* y otros peligros biológicos en el entorno de producción de los PPL.

La capacidad de osmotolerancia que presenta *Cronobacter* puede estar relacionada con su persistencia en el ambiente y con el riesgo de contaminación postelaboración de los preparados para lactantes (FAO/OMS, 2004a).

Otro de los aspectos que debe recibir especial atención es el hecho de que *Cronobacter* y otras enterobacterias son microorganismos que pueden sobrevivir adheridos sobre las superficies internas del equipo que está en contacto directo con el producto, lo que aumenta el riesgo de recontaminación tras la aplicación del tratamiento térmico de inactivación.

Por otra parte, *C. sakazakii* también ha sido aislada del tracto intestinal de la mosca *Stomoxys calcitrans*, que tiene una distribución mundial (Hamilton et al., 2003) (Mramba et al., 2006) y de la mosca de la fruta mexicana *Anastrepha ludens* (Kuzina et al., 2001), estos hallazgos convierten a los insectos en una fuente secundaria de contaminación y su presencia en el entorno de fabricación en un factor de riesgo adicional.

La prevención de la contaminación intrínseca se centra en los siguientes aspectos:

1. Tratamiento térmico de pasterización para reducir las formas vegetativas de patógenos hasta un nivel en el que no son una amenaza para la salud.
2. Control de la calidad microbiológica de las materias primas incorporadas al producto tras la pasterización, mediante una selección cuidadosa de los ingredientes, la realización de inspecciones para evaluar los procesos de los proveedores, el control y la vigilancia de los procedimientos y las evaluaciones periódicas de los ingredientes adquiridos.
3. Programas de vigilancia medioambiental para reducir los niveles de enterobacterias en el entorno y ambiente de proceso (equipos y líneas de procesado).
4. Etiquetado de los preparados en polvo para lactantes que incluya la información de que no son productos estériles.

5.2.2 Contaminación extrínseca

La contaminación extrínseca es la que se produce por malas prácticas higiénicas en la manipulación, preparación o administración de los PPL tanto en el entorno doméstico como hospitalario.

En este caso los factores de riesgo se pueden dividir en tres grupos: 1) factores asociados a la

contaminación del producto; 2) factores asociados a la supervivencia de patógenos en el producto en polvo; y 3) factores asociados a la proliferación de patógenos en el producto en polvo rehidratado.

5.2.2.1 Factores de riesgo asociados a la contaminación de la leche

En el entorno doméstico los principales factores de riesgo que propician la contaminación del producto una vez abierto el envase son los materiales utilizados en la preparación y administración de la leche, el agua utilizada para la rehidratación y el personal implicado en la preparación.

Biberón y materiales utilizados en la preparación

Cronobacter se ha aislado de diferentes utensilios, mezcladores y cucharas utilizados para la preparación de fórmulas para lactantes (FAO/OMS, 2004a), así como del entorno de preparación del biberón en el hogar (Kandhai et al., 2004).

Como se ha indicado previamente algunas bacterias patógenas tienen gran facilidad para formar biopelículas haciéndose más resistentes a la inactivación por agentes físicos (temperatura y desecación) y químicos (detergentes y desinfectantes) (Beuchat et al., 2009). Se ha demostrado experimentalmente la capacidad de *Cronobacter* de adherirse a materiales inertes usados habitualmente en la preparación de alimentos para lactantes, tales como silicona, látex, policarbonato, acero inoxidable, vidrio o cloruro de polivinilo (Iversen et al., 2004) (Hurrell et al., 2009).

Asimismo, se ha observado que la formación de biopelículas se ve favorecida por la disponibilidad de nutrientes en el medio, y que la temperatura puede jugar un papel importante siendo estimulada a 25 °C e inhibida a 12 °C, aún en presencia de nutrientes (Kim et al., 2007) (Beuchat et al., 2009). Otros miembros de la familia *Enterobacteriaceae* como *Salmonella* y *Escherichia coli* también se asocian con la formación de biopelículas sobre superficies inertes (Zogaj et al., 2003).

De esta manera las bacterias patógenas persisten en la superficie de los materiales utilizados en la preparación de la leche o en el propio biberón, convirtiéndose en fuente de contaminación cruzada aunque no se aprecien restos de leche.

En un estudio de evaluación microbiológica en la preparación de PPL en medio hospitalario en Francia (Tudela et al., 2008) se detectaron especies de *Bacillus* en el 54 % de preparados para prematuros y en el 19 % de otros tipos, así como la presencia en dos muestras de estafilococos coagulasa negativo y en otra *Clostridium bif fermentans*. Además en el 4,3 % de las superficies analizadas se encontraron microorganismos como *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bulkkholderia cepacia* y *Staphylococcus aureus*.

Estos resultados ponen de manifiesto la gran importancia que tiene la limpieza exhaustiva de materiales en contacto con el producto, como medida preventiva para impedir el desarrollo de biopelículas y evitar su persistencia en el entorno de preparación de la leche.

Por otra parte está demostrado que los alimentos crudos tanto de origen animal como vegetal son reservorio de patógenos como *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* o *Staphylococcus aureus*. También *Cronobacter* se ha aislado de diversos alimentos de origen animal y vegetal como carne, queso, hierbas y especias

y ensaladas listas para el consumo entre otros (Holy y Forsythe, 2014). En consecuencia los alimentos deben ser considerados fuentes potenciales de contaminación cruzada en el entorno de manipulación del preparado en polvo en el hogar, bien a través de las manos del personal y superficies o mediante utensilios o trapos de cocina.

La evaluación del riesgo elaborada por la FAO/OMS (2004a) estimó una reducción del riesgo relativo de infección por *Cronobacter* de 1,2 veces atribuible a la mejora de la higiene en el entorno de preparación de las fórmulas en polvo.

La OMS (2007) recomienda la esterilización del biberón y de todos los materiales utilizados en su preparación después de su uso, mediante un esterilizador comercial (siguiendo las instrucciones del fabricante), olla a presión o agua hirviendo. Antes del proceso de esterilización todo el material debe lavarse con agua jabonosa caliente y se utilizará un cepillo especial y específico para retirar los restos de leche de los biberones y tetinas. Asimismo, se deben utilizar trapos de cocina limpios y mantener limpias las superficies que se vaya a utilizar en la preparación.

Agua de reconstitución

La preparación de PPL para el consumo requiere la reconstitución del preparado mediante la adición de agua y posterior agitación hasta obtener una mezcla homogénea.

La OMS (2008) en “Las guías para la calidad del agua potable” establece que el agua de consumo (agua potable), no ocasiona ningún riesgo significativo para la salud cuando se consume durante toda una vida, teniendo en cuenta las diferentes vulnerabilidades que pueden presentar las personas en las distintas etapas de su vida. No obstante, una consecuencia de la diversa vulnerabilidad de las personas a los agentes patógenos es que la exposición a agua de consumo de una calidad particular puede producir efectos sobre la salud diferentes en poblaciones diferentes. Por ello, en el caso de lactantes y niños de corta de edad y debido a su sensibilidad a microorganismos cuya presencia en el agua de consumo normalmente no sería preocupante, se deban tomar precauciones adicionales.

Los principales riesgos microbianos asociados al agua de consumo se refieren a patógenos fecales (bacterias, virus, protozoos y helmintos). La destrucción de estos agentes mediante un proceso de desinfección es incuestionable para el suministro de agua potable, sin embargo, la desinfección química habitual mediante productos como el cloro, no garantiza la seguridad del agua, habida cuenta de su limitada eficacia frente a protozoos patógenos y frente a algunos virus. Las condiciones normales de cloración reducen un 99,9 % el riesgo de infección por *Escherichia coli*, Rotavirus, hepatitis A y poliovirus tipo 1. Sin embargo la dosis debe ser 150 veces superior para inactivar los quistes de *Giardia* y 7×10^6 veces superior para inactivar los ooquistes de *Cryptosporidium* (OMS, 1996).

Por esta razón la verificación de la calidad microbiológica del agua medida como ausencia de indicadores de contaminación fecal (*Escherichia coli*) no implica necesariamente que no haya presencia de estos patógenos.

En un estudio llevado a cabo en España (Castro-Hermida et al., 2015) se informa de la detección de parásitos en agua de bebida de la región de Galicia, *Cryptosporidium* spp. en el 40,1 % y *Giardia*

duodenalis en el 33,8 % de las muestras analizadas por PCR. Asimismo ambos parásitos se han detectado en agua de suministro de la ciudad de Sao Paulo en Brasil, en concentraciones que varían de 0,1 a 97 quistes/l de *Giardia* en el 49,5 %, y entre 0,1 y 6 ooquistes/l de *Cryptosporidium* en el 9,2 % de las muestras de agua analizadas (Sato et al., 2013).

Llama también la atención el incremento de casos de criptosporidiosis notificados en 2012 en el Reino Unido, Holanda y Alemania. Aunque no se han determinado las causas, se baraja la contaminación de agua embotellada como uno de los factores implicados (ECDC, 2012).

No existe evidencia de que *Cronobacter* sea transmitida a través del agua de consumo, aunque es posible que pudiera estar presente en agua con calidad deficiente. En una revisión recientemente publicada (Holy y Forsythe, 2014) se destaca la importancia que puede tener el agua como vehículo de transmisión de *Cronobacter* y la falta de atención sobre este posible reservorio del patógeno. No obstante, el patógeno es sensible a los desinfectantes y su presencia puede ser evitada con un tratamiento adecuado de desinfección.

Desde el punto de vista toxicológico, el agua embotellada es apta para la preparación de biberones, pero ello no es sinónimo a asegurar que ésta sea estéril y por tanto libre de microorganismos.

Algunas investigaciones llevadas a cabo para comparar la calidad microbiológica del agua de suministro y agua mineral embotellada indican que el empleo de agua embotellada no supone una mayor garantía para la inocuidad de la leche reconstituida, a no ser que se trate de agua esterilizada (Zamberlan da Silva et al., 2008). Varga (2011) investigó la calidad microbiológica de 246 muestras de agua mineral embotellada no carbonatada procedente de Austria, Croacia, Francia, Alemania e Italia y encontraron coliformes en el 9,3 %, *Escherichia coli* en el 2,8 %, *Enterococcus* spp. en el 0,8 % y *Pseudomonas aeruginosa* en el 2,4 %; por el contrario todas las muestras dieron resultados negativos para anaerobios sulfito reductores. También destacan la obtención de recuentos superiores a 100 ufc/ml de microorganismos a 22 y a 37 °C en el 24 y 20 % de las muestras, respectivamente.

Según el CDC (1995), la ebullición del agua para la preparación de la leche en polvo durante un minuto aseguraría la inactivación de protozoos, bacterias y virus. En este mismo sentido, la OMS recomienda hervir el agua durante 1 minuto (desde que empieza a hervir en la superficie) y añadir 1 minuto por cada 1 000 metros por encima del nivel del mar.

Por todo lo expuesto anteriormente, es conveniente incluir la práctica de ebullición tanto del agua de grifo como del agua envasada, que se vaya a utilizar en la reconstitución de los PPL. Se trata de una medida adicional para asegurar la destrucción de la microbiota no patógena que pueda estar presente en el agua, que normalmente no sería preocupante, pero que podría suponer un problema en el caso de lactante debido a su menor capacidad inmune.

Personal

Los manipuladores de alimentos pueden ser portadores de *Cronobacter*, *Salmonella* y otros patógenos, de forma que al manipular los alimentos, sin tener en cuenta unas buenas prácticas de higiene, se pueden contaminar los alimentos.

En un estudio llevado a cabo en Holanda en el periodo 2001 a 2005 para determinar los posibles reservorios de *Cronobacter*, se aisló el patógeno en una de 98 muestras de heces y en una de 116 muestras de piel de personal manipulador, estos resultados apuntan la posibilidad de que el personal puede constituir una fuente potencial de contaminación de la leche en polvo durante su manipulación (Kandhai et al., 2010).

Asimismo, las personas infectadas o portadoras asintomáticas de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* o *Shigella*, infectadas por norovirus o por otros virus como el virus de la hepatitis A incluso durante el período de incubación, constituyen un factor de riesgo especialmente en el caso de manipulación de alimentos que no se someten a tratamiento térmico previo al consumo y destinados a población de riesgo como los lactantes.

5.2.2.2 Factores de riesgo asociados a la supervivencia de agentes patógenos en PPL

Tanto *Cronobacter* como *Salmonella* tienen la capacidad de sobrevivir en alimentos secos durante largos periodos de tiempo permaneciendo en estado latente y recuperando la capacidad de crecer cuando las condiciones ambientales son favorables.

Cronobacter ha demostrado tener una mayor tolerancia a la desecación en comparación con otras enterobacterias tales como *Escherichia coli* y *Salmonella* (Breeuwer et al., 2003). Esta tolerancia a la desecación está bien documentada en la bibliografía científica, hay evidencia de que puede sobrevivir en leche para lactantes con actividad de agua entre 0,25 y 0,5 (Strydom et al., 2012) (Huertas et al., 2015) y se ha demostrado que puede mantenerse en los PPL hasta 2,5 años (Barron et al., 2007). Por otra parte, *Cronobacter* ha demostrado tener una resistencia significativa a pH ácidos (FAO/OMS, 2004a, 2006).

Una vez reconocida la resistencia de estos patógenos a la desecación y su viabilidad en el producto en polvo durante largo periodo de tiempo, el interés para su control se centra en la posibilidad de inactivación durante el proceso de reconstitución de la leche y en impedir su multiplicación en el producto reconstituido.

De acuerdo con la evaluación de riesgo elaborada por FAO/OMS (2004a), los dos factores que darían lugar a la mayor reducción del riesgo asociado con *Salmonella* y *Cronobacter* son la duración del tiempo de consumo y la inclusión de un tratamiento bactericida en el momento de la rehidratación.

A continuación se exponen los principales factores de riesgo relacionados con la capacidad de supervivencia de patógenos en la preparación en polvo y en el producto rehidratado.

Condiciones de conservación del producto en polvo

Beuchat et al. (2009) observaron que la capacidad de *Cronobacter* de sobrevivir en leche en polvo para lactantes, era mayor cuanto menor era la disponibilidad de agua libre en el medio y cuanto menor era la temperatura de conservación (30, 21 y 4 °C). Por el contrario no encontraron diferencias en la capacidad de supervivencia en función de la composición del PPL.

Aunque se ha demostrado experimentalmente la disminución de *Cronobacter* durante la vida útil de la leche en polvo para lactantes, ésta es muy lenta (0,001 log₁₀ ufc por día) y no implica una reducción significativa del riesgo relativo (FAO/OMS, 2006).

Por otra parte, no parece probable que el contenido de humedad que pudieran alcanzar los preparados en polvo después de abiertos, durante el almacenamiento, aumente lo suficiente para favorecer el crecimiento de los patógenos que hubieran contaminado el producto (FAO/OMS, 2004a). No obstante, se recomienda que el producto en polvo se mantenga bien cerrado, en ambiente seco, con humedad relativa inferior a 70 %, a una temperatura inferior a 20 °C y durante un tiempo máximo de 1 mes (Vargas-Leguás et al., 2009).

Temperatura del agua de reconstitución

La temperatura del agua que se añade para la rehidratación de los PPL puede jugar un papel importante en el control del riesgo asociado a *Cronobacter*, y son muchos los estudios que relacionan este factor con el riesgo de supervivencia del patógeno y su posterior proliferación en la leche reconstituida.

Aunque las especies del género *Cronobacter* han sido consideradas más termotolerantes que otras enterobacterias (Nazarowec-White y Farber, 1997b), la mayoría de los estudios de resistencia térmica muestran en general valores D relativamente bajos (a 58 °C): 0,27-0,5 minutos (Breeuwer et al., 2003); 2,6 minutos (Iversen et al., 2004); 4,2 minutos (Nazarowec-White y Farber, 1997b) y 9,9 minutos en el caso de una cepa especialmente resistente al calor (Edelson-Mammel y Buchanan, 2004). Estas diferencias pueden ser debidas a la influencia de la cepa. Se ha demostrado en PPL reconstituidos a 56-70 °C, que la resistencia térmica de 12 cepas distintas de *Cronobacter* puede variar hasta 20 veces (Edelson-Mammel y Buchanan, 2004), llegándose a la conclusión de que existen dos tipos distintos de fenotipos de resistencia al calor (FAO/OMS, 2004a). A 70 °C el valor D estimado para *Cronobacter* en los PPL es de 0,07 minutos (Edelson-Mammel y Buchanan, 2004).

La bibliografía científica recoge diversos estudios dirigidos a conocer los factores que pueden influir en la resistencia térmica de *Cronobacter* en el proceso de rehidratación. En general, los resultados obtenidos demostraron que 1) el almacenamiento prolongado del PPL incrementaba la susceptibilidad del patógeno al calor durante el proceso de rehidratación con agua caliente (Osaili et al., 2008); 2) el choque térmico a temperaturas inferiores a 47 °C durante 15 minutos mejoraron la tolerancia térmica (Chang et al., 2009); y 3) las células en fase estacionaria mantenidas entre 20 y 37 °C (D60=0,9 min) resultaron ser más resistentes que las mantenidas a 10 °C (D60=0,2 min) y además la resistencia térmica aumentaba a pH neutro y contenido bajo de agua libre (Shaker et al., 2007) (Arroyo et al., 2009).

Otros estudios se han centrado en estudiar la supervivencia de *Cronobacter* en la leche reconstituida en función de la temperatura del agua añadida. Osaili et al. (2008, 2009) obtuvieron una reducción de 5,3 log₁₀ con agua a 70 °C y de 6 log₁₀ cuando se añadía agua caliente a 80-100 °C. Resultados similares son aportados por Edelson-Mammel y Buchanan (2004) con reducciones de 1 y ≥4 log₁₀ con agua a 60 y 70 °C, respectivamente. Otros estudios recientes ponen de evidencia que si bien la reconstitución de la leche con agua a 70 °C supone una reducción significativa de la población de *Cronobacter*, los microorganismos que sobreviven pueden multiplicarse hasta 1,57x10³ ufc/ml después de 24 horas a temperatura ambiente (Huertas et al., 2015).

También es posible que el agua caliente (70 °C) pueda activar esporas de bacterias patógenas presentes en la preparación, las cuales podrán multiplicarse si se mantienen las tomas preparadas por encima de la temperatura de refrigeración durante periodos prolongados de tiempo (OMS, 2007).

La evaluación del riesgo llevada a cabo por la FAO/OMS (2004a) estima una reducción del riesgo relativo por *Cronobacter* de 10 000 veces cuando se aplica un tratamiento capaz de reducir 4 ciclos logarítmicos su población inicial. Por el contrario, en términos de riesgo, la rehidratación con agua a 40-50 °C constituye el peor escenario comparado con temperaturas del agua inferiores a 40 °C (FAO/OMS, 2006).

Aun considerando la existencia de cepas de *Cronobacter* con una mayor termotolerancia que la mayoría de las enterobacterias (Edelson-Mammel y Buchanan, 2004), la FAO/OMS (2004a, 2006) concluyó que la inactivación de *Cronobacter* puede lograrse en poco tiempo con temperaturas superiores a 70 °C y recomienda la rehidratación con agua a 70 °C para reducir el riesgo de infección en lactantes (OMS, 2007).

5.2.2.3 Factores de riesgo asociados a la proliferación de patógenos

Como se ha expuesto anteriormente, *Cronobacter* sobrevive en el producto en polvo durante largos periodos de tiempo y una vez reconstituido el producto, incluso a 70 °C, puede multiplicarse fácilmente dependiendo de la temperatura del medio (Huertas et al., 2015).

Iversen y Forsythe (2003) señalaron que *Cronobacter* puede crecer a temperaturas entre 6-47 °C, con una temperatura óptima de crecimiento de 39 °C; sin embargo, algunas cepas se inhiben a temperaturas superiores a 44 °C (Nazarowec-White y Farber, 1997a) (Iversen et al., 2004) y otras son capaces de crecer a 5 °C (Nazarowec-White y Farber, 1997b). A 4 °C tanto *Cronobacter* como otras enterobacterias patógenas permanecen inactivos.

La capacidad de crecimiento es también mayor a pH 7,2 mientras que se inhibe ligeramente a pH 11,0 (Fu et al., 2011). La resistencia de *Cronobacter* al estrés osmótico se refleja en la capacidad de crecer a una actividad de agua de 0,94.

A continuación se señalan los principales factores de riesgo relacionados con la proliferación de patógenos en la leche rehidratada.

Enfriamiento del producto reconstituido

El trabajo de Huertas et al. (2015) pone de manifiesto algunos factores de riesgo relacionados con la proliferación de *Cronobacter* en los PPL reconstituidos hasta el momento del consumo. Evaluaron el efecto del proceso de enfriamiento del preparado rehidratado con agua a 70 °C hasta alcanzar la temperatura óptima de 37 °C para su administración al lactante. Partiendo de una concentración inicial de 1,4 log₁₀ ufc/ml, comprobaron que después de 24 horas a temperatura ambiente, la leche sometida a un proceso lento de enfriamiento con agua del grifo presentaba recuentos más bajos (2,82 log₁₀ ufc/ml) que la leche sometida a un proceso rápido con agua refrigerada (5,39 log₁₀ ufc/ml). Estos resultados demuestran que el proceso de enfriamiento de la leche reconstituida con agua caliente a 70 °C puede tener un impacto importante en la supervivencia y posterior crecimiento

de *Cronobacter* y que para disminuir el riesgo de infección es más recomendable la práctica de enfriamiento con agua del grifo hasta alcanzar la temperatura óptima para la administración, de aproximadamente 37 °C.

Tiempo de espera y conservación del producto reconstituido entre la preparación y la administración al lactante

Beuchat et al. (2009) estudiaron las condiciones de crecimiento de *Cronobacter* en PPL reconstituidos y no detectaron crecimiento cuando la leche era mantenida a 4 °C aunque el patógeno permanecía viable 72 horas después de la rehidratación. Por el contrario, dependiendo de la concentración inicial de inóculo, se alcanzaban o superaban valores de $1 \log_{10}$ ufc/ml cuando se mantenía a 12, 21 y 30 °C durante 48, 12 y 8 horas, respectivamente, independientemente del PPL.

Iversen et al. (2004) estudiaron la tasa de crecimiento de *Cronobacter* en PPL reconstituidos y comprobaron que los tiempos de generación a 6, 21 y 37 °C se correspondían con 13,7 horas, 1,7 horas y 19-21 minutos, respectivamente; estos resultados demuestran la capacidad de *Cronobacter* de crecer rápidamente si el producto se mantiene a temperatura ambiente.

Rosset et al. (2009) identificaron diversos factores de riesgo de crecimiento de *Cronobacter* en biberones preparados en medio hospitalario, entre ellos la temperatura inicial de la leche, la temperatura y tiempo de mantenimiento del biberón hasta su administración y la temperatura de recalentamiento, concluyendo que el riesgo de infección era consecuencia de la combinación de más de un factor de riesgo.

La evaluación del riesgo llevada a cabo por la FAO/OMS (2004a) estima una reducción del riesgo relativo por *Cronobacter* de 30 veces si se administra dentro de las 2 horas siguientes a la preparación, por el contrario el riesgo aumenta 30 veces después de 6 horas, 1 000 veces después de 8 horas y 30 000 si el tiempo se extiende a 10 horas.

También se ha estudiado el crecimiento de otros patógenos como *Bacillus cereus* en muestras de leche en polvo reconstituida, inoculadas experimentalmente, observándose que la leche refrigerada a 7 °C durante 24 horas mantiene el mismo nivel de concentración de *Bacillus cereus* que presentaba al inicio, mientras que después de 6 horas a 31 °C o de 12 horas a 25 °C se alcanzan niveles que se corresponden con riesgo de intoxicación alimentaria (Rodríguez Máuriz et al., 1996).

De acuerdo con la información disponible la mayoría de organismos de Salud Pública establecen medidas de control basadas en el mantenimiento de los PPL rehidratados en ambiente refrigerado a temperaturas inferiores a 5 °C durante un tiempo máximo de 24 horas, así como en desechar todo el producto que haya permanecido a temperatura ambiente o superior durante más de 2 horas.

Recalentamiento del preparado rehidratado

De acuerdo con la evaluación de riesgo elaborada por la FAO/OMS (2006), el recalentamiento de los PPL rehidratados a 37 °C se presenta como un factor que incrementa el riesgo de *Cronobacter* independientemente de la temperatura de rehidratación aplicada, excepto si se aplican temperaturas de 70 °C.

5.3 Medidas de higiene para minimizar los riesgos microbiológicos asociados a la preparación de PPL

La OMS y la FAO elaboraron en 2007 unas directrices sobre la preparación segura de los biberones. Estas directrices constituyeron la base del Código de prácticas de higiene para los preparados en polvo para lactantes y niños de corta edad (CAC/RCP 66-2008) publicado con el objetivo de proporcionar una orientación práctica y recomendaciones sobre la fabricación higiénica de los PPL y sobre la ulterior preparación, manipulación y uso higiénico del producto reconstituido.

Asimismo, diversos organismos y autoridades de salud pública han publicado recomendaciones para la manipulación segura de PPL (EFSA, 2004) (BDA, 2007) (FSAI, 2012) (NHS, 2012) (Health Canada, 2012) (ACSA, 2013) (FSA, 2006, 2010, 2013) (ANSES, 2013) (BSNA, 2013) (FDA, 2014).

A continuación se recopilan las normas de higiene recomendadas para reducir el riesgo de infección por *Cronobacter* y *Salmonella*, asociado a la manipulación, preparación y administración de PPL, entendiendo que en general son también aplicables al control de otros riesgos microbiológicos asociados a estos productos:

5.3.1 Medidas sobre el uso de preparados líquidos estériles o sometidos a descontaminación

Se debe utilizar, siempre que sea posible y viable, preparados líquidos estériles desde el punto de vista comercial, o preparados que se hayan sometido a un procedimiento eficaz de descontaminación en el lugar donde se utilicen, especialmente si van destinados a lactantes con alto riesgo.

5.3.2 Medidas en la conservación del producto en polvo

- Mantener el producto en polvo bien cerrado en ambiente seco y durante un tiempo máximo de 1 mes.
- Desechar todo producto mantenido en condiciones inadecuadas.

5.3.3 Medidas antes de la preparación del biberón

- Lavado de las manos antes de iniciar la manipulación del producto en polvo.
- Ninguna persona que presente un cuadro de diarrea o gastroenteritis debe preparar el biberón.
- Utilizar trapos limpios y limpiar las superficies de trabajo antes de ser utilizadas en la preparación del biberón. Estas prácticas previenen la contaminación cruzada con alimentos crudos u otros materiales contaminados.
- Todo el material utilizado en contacto con el preparado en polvo o rehidratado, tales como biberones, tetinas, cucharas, escobillas se debe limpiar con agua jabonosa caliente. Es necesario además utilizar escobillas especiales para eliminar los restos de leche, ya que los patógenos de mayor riesgo son capaces de producir biopelículas en las paredes de vidrio, plástico y tetinas.
- Desinfección de los utensilios y biberones antes de utilizarlos en la preparación. Esta práctica garantiza la eliminación de patógenos en las superficies en contacto con la leche y previene la contaminación cruzada siempre y cuando se mantengan protegidos de la contaminación ambiental y se manipulen en condiciones higiénicas.

5.3.4 Medidas en la reconstitución del preparado en polvo

- Tapar el recipiente que contenga el PPL inmediatamente después de su uso.
- Durante el proceso de preparación las tapas del recipiente de la leche en polvo y las cucharas se deben mantener sobre superficies limpias.
- El agua utilizada para la reconstitución de la leche debe ser agua potable y se debe hervir durante 1 minuto. Si se utiliza agua embotellada, se recomienda seguir el mismo procedimiento. Tanto el agua de la red como cualquier agua embotellada que cumplan los criterios normativos son aptas para la preparación de alimentos infantiles (AECOSAN, 2014b).
- Reconstituir el preparado en polvo con agua potable a una temperatura de 70 °C. Se recomienda usarla dentro de los 30 minutos después de hervida. El agua caliente disminuirá el número de células vegetativas patógenas potencialmente presentes.
- Enfriar el biberón bien cerrado mediante agua fría del grifo y evitando que el agua entre en la tetina.
- Evitar el uso del microondas, porque la distribución de la temperatura no es uniforme.
- Cuando no conviene o no es posible disponer de agua caliente se recomienda rehidratar el preparado en polvo con agua a 20 °C, agitar, administrarlo inmediatamente y eliminar el sobrante después de 2 horas desde su preparación.

5.3.5 Medidas en la administración y conservación del producto reconstituido

- Reducir el tiempo que media entre la preparación del preparado deshidratado lácteo y su administración. Se recomienda la preparación y consumo de manera inmediata, para impedir la posible multiplicación del microorganismo.
- El preparado reconstituido no se debe mantener a temperatura ambiente durante más de 2 horas, aunque se haya utilizado agua a temperatura no inferior a 70 °C en su preparación.
- Si no es posible el consumo inmediato es necesario mantener el preparado recién reconstituido en envases y volúmenes que permitan un enfriamiento rápido y mantenerlo a temperaturas inferiores a 5 °C durante un tiempo máximo de 24 horas.
- Después de la refrigeración se puede calentar el biberón durante un máximo de 15 minutos en un recipiente con agua caliente y desechar el sobrante recalentado que no se haya consumido en un plazo de 2 horas.
- No utilizar en ningún caso calienta biberones durante un tiempo prolongado, ya que mantiene la leche en condiciones que favorecen el crecimiento de microorganismos patógenos.
- En situaciones fuera del hogar, se recomienda no reconstituir la leche hasta el momento de la toma a no ser que se pueda garantizar el mantenimiento a temperaturas inferiores a 5 °C durante un tiempo máximo de 2 horas.

6. Riesgos microbiológicos asociados al consumo de alimentos triturados y sólidos

En la Unión Europea, los alimentos elaborados a base de cereales y los alimentos infantiles triturados para niños de corta edad están sujetos a estrictos controles. Se trata de alimentos seguros desde el punto de vista microbiológico, siempre que se respeten las Buenas Prácticas y los siste-

mas de aseguramiento de la calidad durante la producción que garanticen el cumplimiento de los requisitos microbiológicos exigidos por la legislación.

Los alimentos triturados preparados en casa pueden suponer un riesgo mucho mayor debido a factores como la mezcla de ingredientes (carnes, vegetales, frutas) el proceso de triturado, así como sus características intrínsecas (actividad de agua, pH, contenido en nutrientes) que los convierte en un medio de cultivo excelente para los microorganismos, y la alta manipulación que conlleva su preparación y conservación.

Existen numerosos documentos sobre las principales medidas higiénicas para prevenir los riesgos microbiológicos durante la preparación, almacenamiento y consumo de este tipo de alimentos.

A manera de conclusión, se sintetizan las principales medidas higiénicas (Scott, 2000) (Sockett et al., 2001) (Moore, 2008) (OMS, 2009) (Smith, 2011) (AAP, 2014) (AECOSAN, 2014a) (FDA, 2015):

6.1 Para productos comerciales

- Asegurar que el tarro está herméticamente cerrado y con el sello intacto. Cuando existe, verificar que el botón de seguridad que se encuentra en la tapa de los frascos esté hacia abajo. No usar el producto si dicho botón no salta al abrir el frasco. Descartar cualquier tarro que se observe alterado, agrietado, abombado o con la tapa oxidada.
- Seguir estrictamente las instrucciones del fabricante sobre conservación y administración del producto.
- Respetar estrictamente la fecha de consumo preferente indicada en la etiqueta.
- Si se alimenta al niño directamente del tarro no se debe guardar lo sobrante en el refrigerador. Es mejor disponer la ración habitual en un plato y refrigerar el alimento que haya quedado en el tarro. El alimento sobrante en el plato debe desecharse.
- Una vez abierto el tarro y calentado el alimento, no se debe dejar a temperatura ambiente durante más de 2 horas.

6.2 Para alimentos triturados preparados en casa y alimentos sólidos

Normas generales de higiene durante la preparación y conservación

- Utilizar agua potable tanto en la preparación de los alimentos como en la limpieza de utensilios y en el lavado de las manos.
- Lavarse las manos con jabón y agua caliente, al menos durante 20 segundos, con frecuencia, siempre antes y después de manipular los alimentos, tras contactar con cualquier material sucio (residuos, animales), y especialmente después de usar el cuarto de baño y tras cualquier contacto con material contaminado con heces (pañales, cambiador, ropa interior...).
- Ninguna persona que presente un cuadro de diarrea o gastroenteritis debe preparar estos alimentos.
- Utilizar detergente y agua caliente para lavar licuadoras, picadoras o batidoras y cualquier otro utensilio que entren en contacto con los alimentos. Enjuagar bien con agua caliente después de lavarlos.
- Evitar la contaminación cruzada, utilizando distintos utensilios para los alimentos crudos y co-

cinados. Los alimentos cocinados deben guardarse en el refrigerador en un compartimento aparte, separados de crudos.

- Lavar minuciosamente frutas y vegetales frescos con agua corriente limpia incluso si se van a pelar. Este proceso no se realizará en el momento previo a la conservación, sino inmediatamente antes de que se vayan a consumir.
- Lavar y secar la fruta antes de preparar zumos naturales.
- Almacenar las carnes crudas, carnes de aves de corral, pescados y los productos lácteos en la parte más fría del refrigerador inmediatamente después de comprarlos.
- Cocinar los alimentos, especialmente carne y pescado, asegurando que se alcanza la temperatura adecuada en toda la pieza para destruir los microorganismos presentes: se deben alcanzar 71 °C al menos durante 1 minuto (hasta que la carne cambie de color en el centro del producto).
- Debe asegurarse que el refrigerador mantiene la temperatura correcta (inferior a 5 °C).
- El recalentamiento de las comidas conservadas en frío se debe realizar por procedimientos que garanticen que se alcancen temperaturas superiores a 65-70 °C en menos de 1 hora. Además debe realizarse con la menor antelación posible al consumo.
- Deben descartarse los alimentos sobrantes recalentados.

En el caso de alimentos triturados, se extremarán estas medidas de higiene. Algunas medidas específicas son, además:

- Para preparar alimentos triturados es mejor utilizar alimentos frescos, siempre que sea posible, pero también pueden usarse alimentos congelados, si se han descongelado adecuadamente.
- Aunque pueden usarse alimentos enlatados, hay que evitar los alimentos envasados en el hogar, o aquellos cuyo envase presente alteraciones: oxidada, abollada, hinchada, con poros, etc.
- Una vez preparados y triturados, pueden conservarse en el refrigerador, en un recipiente limpio y herméticamente cerrado, durante 24-48 horas.
- Durante el periodo de enfriamiento (desde la cocción hasta su refrigeración o congelación) se mantendrán en el recipiente en el que fueron cocinados, tapados y sin manipular. El triturado se realizará inmediatamente antes de su introducción en el refrigerador o congelador.
- Congelar los triturados en un recipiente hermético, con la ración estimada para una comida. Pueden conservarse por un máximo de 3 meses (1-2 meses para purés que contengan carne o pescado; 3-6 meses para verduras) y luego deben desecharse.
- No dejar a temperatura ambiente los alimentos durante más de 2 horas. Si se realizan desplazamientos, transportar los alimentos en una nevera con aislamiento térmico.
- No guardar nuevamente en el refrigerador el alimento no consumido.

6.3 Alimentos que pueden suponer un riesgo en la alimentación de niños de corta edad

Se debe aconsejar que los niños menores de 3 años no consuman:

- Leche cruda y derivados de leche cruda.
- Quesos de pasta blanda elaborados con leche cruda.

- Frutas y hortalizas crudas que no se hayan lavado previamente.
- Brotes crudos (alfalfa, soja...).
- Zumos sin pasteurizar, a no ser que se haya preparado en el momento, a partir de fruta previamente lavada.
- Huevos no totalmente “cuajados”. Alimentos que contengan huevo crudo, incluyendo salsas y mayonesas caseras, mousses, merengues y pasteles caseros, tiramisú, helados caseros y ponches de huevo.
- Carne cruda, carne “al punto” o poco hecha. Carne ahumada o marinada que no vaya a ser cocinada posteriormente, incluyendo salchichas tipo Frankfurt. Estos alimentos deberán ser cocinados siempre de forma adecuada.
- Moluscos bivalvos crudos. Algunos autores desaconsejan cualquier tipo de pescado crudo, ahumado refrigerado o marinado que no vaya a ser cocinado posteriormente.
- Alimentos producidos por particulares para su autoconsumo (como por ejemplo productos de un huerto propio, huevos de gallinas domésticas...).
- No se recomienda que los niños menores de 1 año consuman miel.

Referencias

- Acheson, D. y Allos, B.M. (2001). *Campylobacter jejuni* Infections: Update on Emerging Issues and Trends. *Clinical Infectious Diseases*, 32 (8), pp: 1201-1206.
- ACSA (2013). Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria. Fichas de seguridad alimentaria. La preparación de biberones. Disponible en: www.gencat.cat [acceso: 2-11-15].
- AECOSAN (2011). Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre el botulismo infantil. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 14, pp: 9-26.
- AECOSAN (2014a). Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) en relación con los riesgos microbiológicos asociados al consumo de determinados alimentos por mujeres embarazadas. *Revista del Comité Científico de la AECOSAN*, 19, pp: 11-49.
- AECOSAN (2014b). Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre los criterios necesarios para poder efectuar en las aguas minerales naturales la mención “indicada para la preparación de alimentos infantiles”. *Revista del Comité Científico de la AECOSAN*, 20, pp: 11-43.
- AEP (2012). Asociación Española de Pediatría. Protocolo para la alimentación con leche materna en las escuelas infantiles. Disponible en: <http://www.aeped.es/comite-lactancia-materna/documentos/protocolo-alimentacion-con-leche-materna-en-las-escuelas-infanti> [acceso: 2-11-15].
- Al-Holy, M.A., Lin, M., Abu-Ghoush, M.M., Al-Qadiri, H.M. y Rasco, B.A. (2009). Thermal resistance survival and inactivation of *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp.) in powdered and reconstituted infant formula. *Journal of Food Safety*, 29, pp: 287-301.
- Alain, S., Dommergues, M.A., Jacquard, A.C., Caulin, E. y Launay, O. (2012). State of the art: Could nursing mothers be vaccinated with attenuated live virus vaccine? *Vaccine*, 30, pp: 4921-4926.
- Allerberger, F., Friedrich, A.W., Grif, K., Dierich, M.P., Dornbusch, H.-R., Mache, C.J. y Zimmerhackl, L.B. (2003). Hemolytic-uremic syndrome associated with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26:H infection and consumption of unpasteurized cow's milk. *International Journal of Infectious Diseases*, 7 (1), pp: 42-45.

- AAP (2012). American Academy of Pediatrics. Breastfeeding and the Use of Human Milk. *Pediatrics*, 129 (3), pp: e827-e841.
- AAP (2014). American Academy of Pediatrics, and the Center for Foodborne Illness. Young Children and Foodborne Illness.
- Anderson, P.H.R. y Stone, D.M. (1955). Staphylococcal Food Poisoning Associated with Spray-Dried Milk. *Epidemiology & Infection*, 53 (4), pp: 387-397.
- Anon (2001). Infant botulism: update. *CDR Weekly*, 11 (33), pp: 4.
- ANSES (2013). Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Infant feeding bottles: how should they be prepared and stored? Using dried infant formula. Disponible en: www.anses.fr/en/content/infant-feeding-bottles-how-should-they-be-prepared-and-stored [acceso: 2-11-15].
- Arku, B., Mullane, N., Fox, M., Fanning, S. y Jordan, K. (2008). *Enterobacter sakazakii* survives spray drying. *International Journal of Dairy Technology*, 61, pp: 102-108.
- Arroyo, C., Condón, S. y Pagán, R. (2009). Thermobacteriological characterization of *Enterobacter sakazakii*. *International Journal of Food Microbiology*, 136, pp: 110-118.
- Asakura, H., Morita-Ishihara, T., Yamamoto, S. y Igimi, S. (2007). Genetic characterization of thermal tolerance in *Enterobacter sakazakii*. *Microbiology and Immunology*, 51, pp: 671-677.
- Asao, T., Kumeda, Y., Kawai, T., Shibata, T., Oda, H., Haruki, K. y Kozaki, S. (2003). An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. *Epidemiology & Infection*, 130 (1), pp: 33-40.
- Bahl, R., Frost, C., Kirkwood, B.R., Edmond, K., Martines, J., Bhandari, N. y Arthur, P. (2005). Infant feeding patterns and risks of death and hospitalization in the first half of infancy: multicentre cohort study. *Bulletin of the World Health Organization*, 83, pp: 418-426.
- Barron, J.C. y Forsythe, S.J. (2007). Dry stress and survival time of *Enterobacter sakazakii* and other Enterobacteriaceae in dehydrated powdered infant formula. *Journal of Food Protection*, 70, pp: 2111-2117.
- BDA (2007). British Dietetic Association. Guidelines for making up special feeds for infants and children in hospital. Disponible en: www.food.gov.uk [acceso: 2-11-15].
- Becker, H., Schaller, G., von Wiese, W. y Terplan, G. (1994). *Bacillus cereus* in infant foods and dried milk products. *International Journal of Food Microbiology*, 23 (1), pp: 1-15.
- Beuchat, L.R., Kim, H., Gurtler, J.B., Lin, L., Ryu J. y Richards G.M. (2009). *Cronobacter sakazakii* in foods and factors affecting its survival, growth, and inactivation. *International Journal of Food Microbiology*, 136, pp: 204-213.
- BIOHAZ (2011). Panel on Biological Hazards. European Food Safety Authority. Scientific Opinion on an update on the present knowledge on the occurrence and control of foodborne viruses. *The EFSA Journal*, 9.
- BOE (1998). Real Decreto 490/1998, de 27 de marzo, por el que se aprueba la Reglamentación técnico-sanitaria específica de los alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad. BOE Nº 83 de 7 de abril de 1998, pp: 11638-11643.
- BOE (2008). Real Decreto 867/2008, de 23 de mayo, por el que se aprueba la Reglamentación técnico-sanitaria específica de los preparados para lactantes y de los preparados de continuación. BOE Nº 31 de 30 de mayo de 2008, pp: 25121-25137.
- Bottone, E.J. (2015). *Yersinia enterocolitica*: Revisitation of an Enduring Human Pathogen. *Clinical Microbiology Newsletter*, 37 (1), pp: 1-8.
- Bowen, A.B. y Braden, C.R. (2006). Invasive *Enterobacter sakazakii* disease in infants. *Emerging Infectious Diseases*, 12, pp: 1185-1189.
- Breeuwer, P., Lardeau, A., Peterz, M. y Joosten, H.M. 2003. Desiccation and heat tolerance of *Enterobacter sakazakii*. *Journal of Applied Microbiology*, 95, pp: 967-973.
- Bryan, F.L. (1992). Evaluaciones por análisis de peligros en puntos críticos de control: guía para identificar

peligros y evaluar riesgos relacionados con la preparación y la conservación de alimentos. Organización Mundial de la Salud. Ginebra.

- BSNA (2013). British Specialist Nutrition Association. Chief Medical Officer Re-States Advice on the Safe Preparation of Infant Formula. Disponible en: www.bsna.co.uk/news/91293/Chief_Medical_Officer_ReStates_Advice_on_the_Safe_Preparation_of_Infant_Formula_ [acceso: 2-11-15].
- CAC (2008). *Codex Alimentarius*. Código de prácticas de higiene para los preparados en polvo para lactantes y niños pequeños (CAC/RCP 66-2008). Disponible en: www.codexalimentarius.org [acceso: 2-11-15].
- Cahill, S.M., Wachsmuth, I.K., Costarrica, M.L. y Ben Embarek, P.K. (2008). Powdered Infant Formula as a Source of *Salmonella* Infection in Infants. *Clinical Infectious Diseases*, 46, pp: 268-273.
- Carmena, D. (2012). Current situation of Giardia infection in Spain: Implications for public health. *World Journal of Clinical Infectious Diseases*, 2 (1), pp: 1.
- Carter, M.J. (2005). Enterically infecting viruses: pathogenicity, transmission and significance for food and waterborne infection. *Journal of Applied Microbiology*, 98, pp: 1354-1380.
- Castro-Hermida, J., González-Warleta, M. y Mezo, M. (2015). *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* as pathogenic contaminants of water in Galicia, Spain: The need for safe drinking water. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 218, pp: 132-138.
- Caubilla-Barron, J. Y Forsythe, S.J. (2007). Dry stress and survival time of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacteriaceae* in dehydrated powdered infant formula. *Journal of Food Protection*, 70, pp: 2111-2117.
- CDC (1995). Centers for Disease Control. Assessing the public health threat associated with waterborne cryptosporidiosis: Report of a Workshop. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 44 (RR-6), pp: 1-18.
- Chang, C.H., Chiang, M.L. y Chou, C.C. (2009). The effect of temperature and length of heat shock treatment on the thermal tolerance and cell leakage of *Cronobacter sakazakii* BCRC 13988. *International Journal of Food Microbiology*, 134, pp: 184-189.
- Chen, H.M., Wang, Y., Su, L.H. y Chiu, C.H. (2013). Nontyphoid *Salmonella* infection: Microbiology, clinical features, and antimicrobial therapy. *Pediatrics and Neonatology*, 54, pp: 147-152.
- Cilieborg, M.S., Boye, M. y Sangild, P.T. (2012). Bacterial colonization and gut development in preterm neonates. *Early Human Development*, 88 (1), pp: S41-49.
- Civardi, E., Garofoli, F., Tzialla, C., Paolillo, P., Bollani, L. y Stronati, M. (2013). Microorganisms in human milk: lights and shadows. *Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 26 (2), pp: 30-34.
- Collier, M.G., Khudyakov, Y.E., Selvage, D., Adams-Cameron, M., Epton, E., Cronquist, A., Jervis, R.H., Lamba, K., Kimura, A.C., Sowadsky, R., Hassan, R., Park, S.Y., Garza, E., Elliott, A.J., Rotstein, D.S., Beal, J., Kuntz, T., Lance, S.E., Dreisch, R., Wise, M.E., Nelson, N.P., Suryaprasad, A., Drobeniuc, J., Holmberg, S.D. y Xu, F. (2014). Outbreak of hepatitis A in the USA associated with frozen pomegranate arils imported from Turkey: an epidemiological case study. *The Lancet Infectious Diseases*, 14, pp: 976-981.
- Craven, H.M., McAuley, C.M., Duffy, L.L. y Fegan, N. (2010). Distribution, prevalence and persistence of *Cronobacter (enterobacter sakazakii)* in the nonprocessing and processing environments of five milk powder factories. *Journal of Applied Microbiology*, 109, pp: 1044-1052.
- Cremon, C., Stanghellini, V., Pallotti, F., Fogacci, E., Bellacosa, L., Morselli-Labate, A.M., Paccapelo, A., Di Nardo, G., Cogliandro, R.F., De Giorgio, R., Corinaldesi, R. y Barbara, G. (2014). *Salmonellosis* Gastroenteritis During Childhood Is a Risk Factor for Irritable Bowel Syndrome in Adulthood. *Gastroenterology*, 147, pp: 69-77.
- Dancer, G.I., Mah, J.H., Rhee, M.S., Hwang, I.G. y Kang, D.H. (2009). Resistance of *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp.) to environmental stresses. *Journal of Applied Microbiology*, 107, pp: 1606-1614.
- D'Andrea, L., Pérez-Rodríguez, F.J., de Castellarnau, M., Manzanares, S., Lite, J., Guix, S., Bosch, A. y Pinto, R.M. (2015). Hepatitis A virus genotype distribution during a decade of universal vaccination of preadolescents. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, pp: 6842-6854.
- Dawson, D. (2005). Foodborne protozoan parasites. *International Journal of Food Microbiology*, 103 (2), pp: 207-

- De la Cochetiere, M.F., Piloquet, H., des Robert, C., Darmaun, D., Galmiche, J.P. y Roze, J.C. (2004). Early intestinal bacterial colonization and necrotizing enterocolitis in premature infants: the putative role of *Clostridium*. *Pediatric Research*, 56 (3), pp: 366-370.
- Decludt, B., Bouvet, P., Mariani-Kurkdjian, P., Grimont, F., Grimont, P.A., Hubert, B. y Loirat, C. (2000). Haemolytic uraemic syndrome and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in children in France. *Epidemiology and Infection*, 124 (2), pp: 215-220.
- Dewey, K.G. y Adu-Afaruwah, S. (2008). Systematic review of the efficacy and effectiveness of Complementary feeding interventions in developing countries. *Maternal and Child Nutrition*, 4 (s1), pp: 24-85.
- Díaz-Gómez, N.M. (2005). ¿En qué situaciones está contraindicada la lactancia materna? *Acta Pediatra Española*, 63, pp: 321-327.
- Doran, T.I. (1999). The Role of Citrobacter in Clinical Disease of Children: Review. *Clinical Infectious Diseases*, 28 (2), pp: 384-394.
- Doyle, M.P. (2003). Foodborne parasites. Wisconsin: Food Research Institute. Disponible en: https://fri.wisc.edu/files/Briefs_File/parasites.pdf [acceso: 4-11-15].
- Doyle, M.E., Hartmann, F.A. y Lee Wong, A.C. (2012). Methicillin-resistant staphylococci: implications for our food supply? *Animal Health Research Reviews*, 13 (2), pp: 157-180.
- ECDC (2012). European Centre for Disease Prevention and Control. Increased *Cryptosporidium* infections in the Netherlands, United Kingdom and Germany in 2012. Stockholm. Disponible en: www.ecdc.europa.eu [acceso: 4-11-15].
- Edelson-Mammel, S.G. y Buchanan, R.L. (2004). Thermal inactivation of *Enterobacter sakazakii* in rehydrated infant formula. *Journal of Food Protection*, 67, pp: 60-63.
- Edmond, K.M., Zandoh, C., Quigley, M.A., Amenga-Etego, S., Owusu-Agyei, S. y Kirkwood, B.R. (2006). Delayed Breastfeeding Initiation Increases Risk of Neonatal Mortality. *Pediatrics*, 117, pp: e380-e386.
- EFSA (2004). European Food Safety Authority. Opinion of the Scientific Panel on biological hazards (BIOHAZ) related to the microbiological risks in infant formulae and follow-on formulae. *The EFSA Journal*, 113, pp: 1-35.
- EFSA (2005). European Food Safety Authority. Opinion of the Scientific Panel on biological hazards (BIOHAZ) related to *Campylobacter* in animals and foodstuffs. *The EFSA Journal*, 173, pp: 1-10.
- EFSA (2007). European Food Safety Authority. Monitoring and identification of human enteropathogenic *Yersinia* spp. *The EFSA Journal*, 595, pp: 1-30.
- EFSA (2009). European Food Safety Authority. Scientific Opinion of the BIOHAZ Panel: Assessment of the Public Health significance of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in animals and foods. *The EFSA Journal*, 993, pp: 1-73.
- EFSA (2013). European Food Safety Authority. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Listeria monocytogenes* in certain ready-to-eat foods in the EU, 2010-2011 Part A: *Listeria monocytogenes* prevalence estimates. *The EFSA Journal*, 11 (6), pp: 3241.
- Enoch, D.A., Butler, M.J., Pai, S., Aliyu, S.H. y Karas, J.A. (2011). *Clostridium difficile* in children: Colonisation and disease. *Journal of Infection*, 63 (2), pp: 105-113.
- Epps, S.V.R., Harvey, R.B., Hume, M.E., Phillips, T.D., Anderson, R.C. y Nisbet, D.J. (2013). Foodborne *Campylobacter*: Infections, Metabolism, Pathogenesis and Reservoirs. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10 (12), pp: 6292-6304.
- Ethelberg, S., Olesen, B., Neimann, J., Schiellerup, P., Helms, M., Jensen, C., Böttiger, B., Olsen, K.E.P., Scheutz, F., Gerner-Smidt, P. y Mølbak, K. (2006). Risk Factors for Diarrhea Among Children in an Industrialized Country. *Epidemiology*, 17, pp: 24-30.
- FAO/OMS (2004a). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud. *Enterobacter sakazakii* y otros microorganismos en los preparados en polvo para lactantes: informe de la reunión. Roma: FAO.

- FAO/OMS (2004b). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud. Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Roma: FAO.
- FAO/OMS (2006). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud. *Enterobacter sakazakii* and *Salmonella* in powdered infant formula: Meeting report. Roma: FAO.
- FAO/OMS (2007). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud. Guidelines for the safe preparation, storage and handling of powdered infant formula. Disponible en: <http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/pif2007/en/> [acceso: 4-11-15].
- FAO/OMS (2008a). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud. *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp.) in powdered follow-up formulae: Meeting Report. Roma: FAO.
- FAO/OMS (2008b). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud. Virus in food: Scientific advice to support risk management activities.
- FAO/OMS (2009). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura/Organización Mundial de la Salud. *Salmonella* and *campylobacter* in chicken meat. ROMA: FAO.
- FDA (2014). Food and Drug Administration. Consumer Health Information. FDA Takes Final Step on Infant Formula Protections. Disponible en: www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates [acceso: 4-11-15].
- FDA (2015). Food and Drug Administration. Consumer Health Information. Infants & Toddlers. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/PeopleAtRisk/ucm047530.htm> [acceso: 4-11-15].
- Ferens, W.A. y Hovde, C.J. (2011). *Escherichia coli* O157:H7: Animal reservoir and sources of human infection. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8, pp: 465-487.
- Forsythe, S. (2005). *Enterobacter sakazakii* and other bacteria in powdered infant milk formula. *Maternal and Child Nutrition*, 1, pp: 44-50.
- Friedemann, M. (2009). Epidemiology of invasive neonatal *Cronobacter* (*Enterobacter sakazakii*) infections. *European Journal of Clinical Microbiology*, 28, pp: 1297-1304.
- FSA (2006). Food Standards Agency. Guidance for health professionals on safe preparation, storage and handling of powdered infant formula. Disponible en: www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/formulaguidance.pdf [acceso: 4-11-15].
- FSA (2010). Food Standards Agency. FSA reminds parents of advice on making up infant formula. Disponible en: <http://www.food.gov.uk> [acceso: 4-11-15].
- FSA (2013). Food Standards Agency. Safe preparation of powdered infant formula. Disponible en: <http://www.food.gov.uk> [acceso: 4-11-15].
- FSAI (2012). Food Safety Authority of Ireland. Guidance Note No. 22. Information Relevant to the Development of Guidance Material for the Safe Feeding of Reconstituted Powdered Infant Formula (Revision 2). Disponible en: www.fsai.ie [acceso: 4-11-15].
- Fu, S., Gao, J., Liu, Y. y Chen, H. (2011). Isolation of *Cronobacter* spp. Isolates from Infant Formulas and Their Survival in the Production Process of Infant Formula. *Czech Journal of Food Sciences*, 29 (4), pp: 391-399.
- Gajdosova, J., Benedikovicova, K., Kamodyova, N., Tothova, L., Kaclikova, E., Stuchlik, S., Turna, J. y Drahovska, H. (2011). Analysis of the DNA region mediating increased thermotolerance at 58°C in *Cronobacter* spp. and other enterobacterial strains. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 100, pp: 279-289.
- Gallay, A., De Valk, H., Cournot, M., Ladeuil, B., Hemery, C., Castor, C., Bon, F., Mégraud, F., Le Cann, P. y Desenclos, J.C. (2010). A large multi-pathogen waterborne community outbreak linked to faecal contamination of a groundwater system, France, 2000. *Clinical Microbiology and Infection*, 12, pp: 561-570.
- Ganesh, B., Banyai, K., Martella, V., Jakab, F., Masachessi, G. y Kobayashi, N. (2012). Picobirnavirus infections: viral persistence and zoonotic potential. *Reviews in Medical Virology*, 22, pp: 245-256.
- Granum, P.E. y Lund, T. (1997). *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiology Letters*, 157 (2), pp: 223-228.

- Grass, J.E., Gould, L.H. y Mahon, B.E. (2013). Epidemiology of foodborne disease outbreaks caused by *Clostridium perfringens*, United States, 1998-2010. *Foodborne Pathogens and Disease*, 10 (2), pp: 131-136.
- Gronlund, M., Arvilommi, H., Kero, P., Lehtonen, O. y Isolauri, E. (2000). Importance of intestinal colonisation in the maturation of humoral immunity in early infancy: a prospective follow up study of healthy infants aged 0-6 months. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition*, 83 (3), pp: F186-F192.
- Guarino, A., Albano, F., Ashkenazi, S., Gendrel, D., Hoekstra, J.H., Shamir, R. y Szajewska, H. (2008). European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Paediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: executive summary. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 46, pp: 619-621.
- Gurtler, J.B., Kornacki, J.L. y Beuchat, L.R. (2005). *Enterobacter sakazakii*: a coliform of increased concern to infant health. *International Journal of Food Microbiology*, 104, pp: 1-34.
- Guzmán-Herrador, B., Jensvoll, L., Einoder-Moreno, M., Lange, H., Myking, S., Nygard, K., Stene-Johansen, K. y Vold, L. (2014). Ongoing hepatitis A outbreak in Europe 2013 to 2014: imported berry mix cake suspected to be the source of infection in Norway. *Euro Surveill*, 19.
- Hamilton, J.V., Lehane, M.J. y Braig, H.R. (2003). Isolation of *Enterobacter sakazakii* from Midgut of Stomoxys calcitrans. *Emerging Infectious Diseases*, 9 (10), pp: 1355-1356.
- Hamprecht, K., Maschmann, J., Vochem, M., Dietz, K., Speer, C.P. y Jahn, G. (2001). Epidemiology of transmission of cytomegalovirus from mother to preterm infant by breastfeeding. *Lancet*, 357, pp: 513-518.
- Hayashi, S., Kimura, H., Oshiro, M., Kato, Y., Yasuda, A., Suzuki, C., Watanabe, Y., Morishima, T. y Hayakawa, M. (2011). Transmission of cytomegalovirus via breast milk in extremely premature infants. *Journal of Perinatology*, 31, pp: 440-445.
- Health Canada (2012). Preparing and handling powdered infant formula. Disponible en: www.healthycanadians.gc.ca/eating-nutrition/safety-salubrite/formula-nourrisson-eng.php [acceso: 4-11-15].
- Healy, B., Cooney, S., O'Brien, S., Iversen, C., Whyte, P., Nally, J., Callanan, J.J. y Fanning, S. (2010). *Cronobacter (Enterobacter sakazakii)*: an oportunistic foodborne pathogen. *Foodborne Pathogen and Disease*, 7, pp: 339-350.
- Helwigh, B., Korsgaard, H., Grønland, A.J., Sørensen, A.H., Jensen, A.N., Boel, J. y Borck Høg, B. (2009). External Scientific Report Microbiological contaminants in food in the European Union in 2004-2009. Technical University of Denmark. Supporting Publications 2012: EN-249.
- Helwigh, B., Korsgaard, H., Anne, J., Grønland, A.J., Sørensen, A.H., Jensen, A.N., Boel, J. y Høg, B.B. (2012). Microbiological contaminants in food in the European Union in 2004-2009. Technical University of Denmark. Supporting Publications 2012: EN-249.
- Hinckley, A.F., O'Leary, D.R. y Hayes, E.B. (2007). Transmission of West Nile Virus Through Human Breast Milk Seems to Be Rare. *Pediatrics*, 119, pp: e666-e671.
- Holy, O. y Forsythe, S. (2014). Cronobacter spp. Emerging cause of healthcare-associated infection. *Journal of Hospital Infection*, 86, pp: 169-177.
- Hoofnagle, J.H., Nelson, K.E. y Purcell, R.H. (2012). Hepatitis E. *The New England Journal of Medicine*, 367, pp: 1237-1244.
- Huertas, J.P., Álvarez-Ordóñez, A., Morrissey, R., Ros-Chumillas, M., Esteban, M.D., Maté, J., Palop, A. y Hill, C. (2015). Heat resistance of *Cronobacter sakazakii* DPC 6529 and its behavior in reconstituted powdered infant formula. *Food Research International*, 69, pp: 401-409.
- Hurrell, E., Kucerova, E., Loughlin, M., Caubilla-Barron, J. y Forsythe, S.J. (2009). Biofilm formation on enteral feeding tubes by *Cronobacter sakazakii*, *Salmonella* serovars and other *Enterobacteriaceae*. *International Journal of Food Microbiology*, 136, pp: 227-231.
- INFOSAN (2005). Red Internacional de autoridades de inocuidad de los alimentos. *Enterobacter sakazakii* en las fórmulas infantiles en polvo. Nota informativa no.1/2005-*Enterobacter sakazakii*. Disponible en: www.who.int/foodsafety/fs_management/No_01_Esakazakii_Jan05_sp.pdf [acceso: 4-11-15].

- ISCI (2011). Instituto de Salud Carlos III. Brote supracomunitario de gastroenteritis por *Salmonella Poona* en 2010-2011 Centro Nacional de Epidemiología. *Boletín Epidemiológico Semanal*, 19 (13).
- Isonhood, J.H. y Drake, M. (2002). *Aeromonas* species in foods. *Journal of Food Protection*, 65 (3), pp: 575-582.
- Iversen, C. y Forsythe, S. (2003). Risk profile of *Enterobacter sakazakii*, and emergent pathogen associated with infant milk formula. *Trends in Food Science and Technology*, 14, pp: 443-454.
- Iversen, C. y Forsythe, S. (2004). Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other Enterobacteriaceae from powdered infant formula milk and related products. *Food Microbiology*, 21, pp: 771-777.
- Iversen, C., Lane, M. y Forsythe, S.J. (2004). The growth profile, thermotolerance and biofilm formation of *Enterobacter sakazakii* grown in infant formula milk. *Letters in Applied Microbiology*, 38, pp: 378-382.
- Janda, J.M. y Abbott, S.L. (2010). The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 23 (1), pp: 35-73.
- Jiang, V., Jiang, B., Tate, J., Parashar, U.D. y Patel, M.M. (2010). Performance of rotavirus vaccines in developed and developing countries. *Hum Vaccin*, 6, pp: 532-542.
- Jones, T.F., Kellum, M.E., Porter, S.S., Bell, M. y Schaffner, W. (2002). An Outbreak of Community-Acquired Foodborne Illness Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases*, 8 (1), pp: 82-84.
- Kandhai, M.C., Heuvelink, A.E., Reij, M.W., Beumer, R.R., Dijk, R., van Tilburg, J.J.H.C., van Schothorst, M. y Gorris, L.G.M. (2010). A study into the occurrence of *Cronobacter* spp. in The Netherlands between 2001 and 2005. *Food Control*, 21, pp: 1127-1136.
- Kandhai, M.C., Reij, M.W., Gorris, L.G., Guillaume-Gentil, O. y Van Schothorst, M. (2004). Occurrence of *Enterobacter sakazakii* in food production environments and households. *Lancet*, 363, pp: 39-40.
- Kaper, J.B., Nataro, J.P. y Mobley, H.L.T. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2 (2), pp: 123-140.
- Kim, S.H. y Park, J.H. (2007). Thermal resistance and inactivation of *Enterobacter sakazakii* isolates during rehydration of powdered infant formula. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17, pp: 364-368.
- Kitajima, M. y Gerba, C.P. (2015). Aichi virus 1: environmental occurrence and behavior. *Pathogens*, 4, pp: 256-268.
- Koehler, K.M., Lasky, T., Fein, S.B., DeLong, S.M., Hawkins, M.A., Rabatsky-Ehr, T. y Vugia, D.J. (2006). Population-Based Incidence of Infection with Selected Bacterial Enteric Pathogens in Children Younger Than Five Years of Age, 1996-1998. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 25 (2), pp: 129-134.
- Koopmans, M. y Duizer, E. (2004). Foodborne viruses: an emerging problem. *International Journal of Food Microbiology*, 90, pp: 23-41.
- Krain, L.J., Atwell, J.E., Nelson, K.E. y Labrique, A.B. (2014). Fetal and Neonatal Health Consequences of Vertically Transmitted Hepatitis E Virus Infection. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 90, pp: 365-370.
- Kramer, J.M. y Gilbert, R.J. (1989). *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species, pp: 21-70. En libro: *Foodborne bacterial pathogens*. Doyle, M.P. Marcel Dekker, New York. pp: 21-70.
- Kuzina, L.V., Peloquin, J.J., Vacek, D.C. y Miller, T.A. (2001). Isolation and identification of bacteria associated with adult laboratory Mexican fruit flies, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *Current Microbiology*, 42, pp: 290-410.
- Lamounier, J.A., Moulin, Z.S. y Xavier, C.C. (2004). Recommendations for breastfeeding during maternal infections. *Journal de Pediatria*, 80 (5), pp: S181-S188.
- Lampel, K.A. y Maurelli, A.T. (2007). *Shigella* species. En libro: *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. Doyle, M.P. y Beuchat, L.R., Washington, D.C., ASM Press. pp: 323-341.
- Lanari, M., Sogno Valin, P., Natale, F., Capretti, M.G. y Serra, L. (2012). Human milk, a concrete risk for infection? *Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 25 (4), pp: 75-77.
- Lanzieri, T.M., Dollard, S.C., Josephson, C.D., Schmid, D.S. y Bialek, S.R. (2013). Breast Milk-Acquired Cytomegalovirus Infection and Disease in VLBW and Premature Infants. *Pediatrics*, 131, pp: e1937-e1945.

- Le Loir, Y., Baron, F. y Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*, 2 (1), pp: 63-76.
- Li, Y., Chen, Q., Zhao, J., Jiang, H., Lu, F., Bie, X. y Lu, Z. (2014). Isolation, identification and antimicrobial resistance of *Cronobacter* spp. Isolated from various foods in China. *Food Control*, 37, pp: 109-114.
- Lim, J.Y., Yoon, J.W. y Hovde, C.J. (2010). A brief overview of *Escherichia coli* O157:H7 and its plasmid O157. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20, pp: 5-14.
- Martín, R., Langa, S., Reviriego, C., Jiménez, E., Marín, M.L., Xaus, J., Fernández, L. y Rodríguez, J.M. (2003). Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *Journal of Pediatrics*, 143 (6), pp: 754-758.
- Mateo, M., Mateo, M., Montoya, A., Bailo, B., Saugar, J.M., Aguilera, M. y Carmena, D. (2014). Detection and Molecular Characterization of Giardia duodenalis in Children Attending Day Care Centers in Majadahonda, Madrid, Central Spain. *Medicine*, 93 (15), pp: e75.
- Mayr, C., Strohe, G. y Contzen, M. (2009). Detection of rotavirus in food associated with a gastroenteritis outbreak in a mother and child sanatorium. *International Journal of Food Microbiology*, 135, pp: 179-182.
- McClane, B.A., Robertdon, S.I. y Li, J. (2013). *Clostridium perfringens*. En libro: *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. 4ª edición. Doyle, M.P. y Buchanan, R.L. American Society for Microbiology. pp: 465-490.
- McDonald, S.D. y Gruslin, A. (2001). A review of *Campylobacter* infection during pregnancy: A focus on *C. jejuni*. *Primary Care Update for Ob/Gyns*, 8, pp: 253-257.
- Moore, D.L. (2008). Foodborne infections. *Paediatric Child Health*, 13 (9), pp: 779-782.
- Moriuchi, H., Masuzaki, H., Doi, H. y Katamine, S. (2013). Mother-to-child Transmission of Human T-cell Lymphotropic Virus Type 1. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 32, pp: 175-177.
- Mramba, F., Broce, A. y Zurek, L. (2006). Isolation of *Enterobacter sakazakii* from stable flies, *Stomoxys calcitrans* L. (Diptera: Muscidae). *Journal of Food Protection*, 69 (3), pp: 671-673.
- Muehlenbachs, A., Bhatnagar, J. y Zaki, S.R. (2015). Tissue tropism, pathology and pathogenesis of enterovirus infection. *Journal of Pathology*, 235, pp: 217-228.
- Mullane, N.R., Healy, B., Meade, J., Whyte, P., Wall, P.G. y Fanning, S. (2008). Dissemination of *Cronobacter* spp. (*Enterobacter sakazakii*) in a powdered milk protein manufacturing facility. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, pp: 5913-5917.
- Murata, T., Katsushima, N., Mizuta, K., Muraki, Y., Hongo, S. y Matsuzaki, Y. (2007). Prolonged norovirus shedding in infants <or=6 months of age with gastroenteritis. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 26, pp: 46-49.
- Muytjens, H.L., Roelofs-Willemsse, H. y Jaspar, G.H.J. (1988). Quality of powdered substitutes for breast milk with regard to members of the *Enterobacteriaceae*. *Journal of Clinical Microbiology*, 26, pp: 743-746.
- Nataro, J.P. y Kaper, J.B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11 (1), pp: 142-201.
- Nazarowec-White, M. y Farber, J.M. (1997a). Incidence, survival and growth of *Enterobacter sakazakii* in infant formula. *Journal of Food Protection*, 60, pp: 226-230.
- Nazarowec-White, M. y Farber, J.M. (1997b). Thermal resistance of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted dried-infant formula. *Letters in Applied Microbiology*, 24, pp: 9-13.
- Newell, D.G., Koopmans, M., Verhoef, L., Duizer, E., Aidara-Kane, A., Sprong, H., Opsteegh, M., Langelaar, M., Threlfall, J., Scheutz, F., der Giessen, Jv. y Kruse, H. (2010). Food-borne diseases-The challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *International Journal of Food Microbiology*, 139, pp: S3-S15.
- NHS (2012). National Health Service. Guide to Bottle feeding. How to prepare infant formula and sterilise feeding equipment to minimise the risks to your baby. 2012. Disponible en: www.nhs.uk/start4life/documents/pdfs/start4life_guide_to_bottle_feeding.pdf [acceso: 4-11-15].
- NICE (2010). National Institute for Health and Care Excellence. Donor milk banks: the operation of donor milk bank services. Clinical guideline 93.
- Nichols, G.L. (2000). Food-borne protozoa. *British Medical Bulletin*, 56 (1), pp: 209-235.

- Norberg, S., Stanton, C., Ross, R.P., Hill, C., Fitzgerald, G.F. y Cotter, P.D. (2012). *Cronobacter* spp. in powdered infant formula. *Journal of Food Protection*, 75, pp: 607-620.
- Noriega, F.R., Kotloff, K.L. y Schwalbe, R.S. (1990). Nosocomial bacteremia caused by *Enterobacter sakzakii* and *Leuconostoc mesenteroides* resulting from extrinsic contamination of infant formula. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 9, pp: 447-449.
- Olsen, S.J., Bishop, R., Brenner, F.W., Roels, T.H., Bean, N., Tauxe, R.V. y Slutsker, L. (2001). The changing epidemiology of *Salmonella*: Trends in serotypes isolated from humans in the United States, 1987-1997. *Journal of Infectious Diseases*, 183, pp: 753-761.
- OMS (1996). Organización Mundial de la Salud. Protozoa. Guidelines for drinking-water quality. Vol 2. Health criteria and other supporting information. 2nd ed. Geneva. pp: 52-67.
- OMS (2007). Organización Mundial de la Salud. HIV Transmission Through Breastfeeding. A review of available evidence. Updated 2007.
- OMS (2008). Organización Mundial de la Salud. Guías para la calidad del agua potable, 3ª edición. Disponible en: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3rev/es/ [acceso: 4-11-15].
- OMS (2009). Organización Mundial de la Salud. Children's Health and the Environment. Disponible en: www.who.int/ceh. 2009. <http://www.who.int/ceh/capacity/food.pdf> [acceso: 4-11-15].
- OMS (2010). Organización Mundial de la Salud. Guidelines on HIV and infant feeding 2010. Principles and recommendations for infant feeding in the context of HIV and a summary of evidence.
- OMS (2015). Organización Mundial de la Salud. Hepatitis E. Fact sheet N° 280. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs280/en/> [acceso: 4-11-15].
- Osaili, T.M., Al-Nabulsi, A.A., Shaker, R.R., Ayyash, M.M., Olaimat, A.N., Abu Al-Hasan, A.S., Qadora, K.M. y Holley, R.A. (2008). Effects of extended dry storage of powdered infant milk formula on susceptibility of *Enterobacter sakzakii* to hot water and ionizing irradiation. *Journal of Food Protection*, 71, pp: 934-939.
- Osaili, T.M., Shaker, R.R., Al-Haddad, M.S., Al-Nabulsi, A.A., y Holley, R.A. (2009). Heat resistance of *Cronobacter* species (*Enterobacter sakzakii*) in milk and special feeding formula. *Journal of Applied Microbiology*, 107 (3), pp: 928-935.
- Pagotto, F.J., Nazarowec-White, M., Bidawid, S. y Farber, J.M. (2003). *Enterobacter sakzakii*: infectivity and enterotoxin production *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Food Protection*, 66, pp: 370-375.
- Pan, Z., Cui, J., Lyu, G., Du, X., Qin, L., Guo, Y., Xu, B., Li, W., Cui, Z. y Zhao, C. (2014). Isolation and molecular typing of *Cronobacter* spp. in commercial powdered infant formula and follow-up formula. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11, pp: 456-461.
- Park, S.F. (2002). The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 74 (3), pp: 177-188.
- Parra, J.F., Oliveras, L.V., Rodriguez, A.F., Riffo, F.S., Jackson, E. y Forsythe, S. (2015). Risk of *Cronobacter sakzakii* in powdered milk for infant nutrition. *Revista Chilena de Nutrición*, 42, pp: 83-89.
- Parry, S.M. y Salmon, R.L. (1998). Sporadic STEC O157 infection: secondary household transmission in Wales. *Emerging Infectious Diseases*, 4 (4), pp: 657-661.
- Patel, M.M., Widdowson, M.A., Glass, R.I., Akazawa, K., Vinje, J. y Parashar, U.D. (2008). Systematic literature review of role of noroviruses in sporadic gastroenteritis. *Emerging Infectious Diseases*, 14, pp: 1224-1231.
- Pintó, R., Costafreda, M.I., Pérez-Rodríguez, F., D'Andrea, L. y Bosch, A. (2010). Hepatitis A Virus: State of the Art. *Food and Environmental Virology*, 2, pp: 127-135.
- Rabet, L.M., Vos, A.P. Boehm, G. y Garssen, J. (2008). Breast-Feeding and Its Role in Early Development of the Immune System in Infants: Consequences for Health Later in Life. *Journal of Nutrition*, 138, pp: 1782S-1790S.
- Räsänen, S., Lappalainen, S., Kaikkonen, S., Hämäläinen, M., Salminen, M. y Vesikari, T. (2010). Mixed viral infections causing acute gastroenteritis in children in a waterborne outbreak. *Epidemiology & Infection*, 138, pp: 1227-1234.

- Reich, F., König, R., vonWiese, W. y Klein, G. (2010). Prevalence of *Cronobacter* spp. In a powdered infant formula processing environment. *International Journal of Food Microbiology*, 140, pp: 214-217.
- Robilotti, E., Deresinski, S. y Pinsky, B.A. (2015). Norovirus. *Clinical Microbiology Reviews*, 28, pp: 134-164.
- Robins-Browne, R.M. (2007). *Yersinia enterocolitica*. En libro: *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. Doyle, M.P. y Beuchat, L.R., 3ª Edición. Washington, D.C.: ASM Press. pp: 293-322.
- Rodríguez Máuriz, C., Valdés Amey, E., Lara Ortiz, C. y Vilalta Remón, A. (1996). Multiplicación del *Bacillus Cereus* inoculado en leche en polvo reconstituida. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 10 (2), pp: 87-89.
- Rodríguez Salinas, E.P., Peña, A., José, A., Allue Tango, M., Pérez, L., Angeles, M. y José, M. (2000). Brote de Criptosporidiosis en Guadarrama. (Comunidad Autónoma de Madrid). *Revista Española de Salud Pública*, 74 (5-6), pp: 527-536.
- Rosner, B.M., Stark, K., Höhle, M. y Werber, D. (2012). Risk factors for sporadic *Yersinia enterocolitica* infections, Germany 2009-2010. *Epidemiology & Infection*, 140 (10), pp: 1738-1747.
- Rosow, L.K. y Strober, J.B. (2015). Infant botulism: review and clinical update. *Pediatrics Neurology*, 52, pp: 487-492.
- Rosset, P., Noel, V. y Morelli, E. (2007). Time-temperature profiles of infant milk formula in hospitals and analysis of *Enterobacter sakazakii* growth. *Food Control*, 18, pp: 1412-1418.
- Ruggeri, F.M. y Fiore, L. (2012). Vaccine preventable viral diseases and risks associated with waterborne transmission. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 48, pp: 460-472.
- Sabria, A., Pinto, R.M., Bosch, A., Bartolome, R., Cornejo, T., Torner, N., Martínez, A., de Simon, M., Domínguez, A. y Guix, S. (2014). Molecular and clinical epidemiology of norovirus outbreaks in Spain during the emergence of GII.4 2012 variant. *Journal of Clinical Virology*, 60, pp: 96-104.
- Sánchez-Vargas, F.M., Abu-El-Haija, M.A. y Gómez-Duarte, O. (2011). *Salmonella* infections: An update on epidemiology, management, and prevention. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 9, pp: 263-277.
- Santiago, B., Guerra, L., García-Morín, M., González, E., González, A., Izquierdo, G., Martos, A., Santos, M., Navarro, M., Hernández-Sampelayo, M.T. y Saavedra-Lozano, J. (2015). *Clostridium difficile* isolation in children hospitalized with diarrhoea. *Anales de Pediatría*, 82, pp: 417-425.
- Sato, M.I.Z., Galvani, A.T., Padula, J.A., Nardocci, A.C., de Souza Lauretto, M., Razolini, M.T. y Hachich, E.M. (2013). Assessing the infection risk of *Giardia* and *Cryptosporidium* in public drinking water delivered by surface water system in Sao Paulo State, Brazil. *Science of the Total Environment*, 442, pp: 389-396.
- Sayed, I.M., Vercouter, A-S., Abdelwahab, S.F., Vercauteren, K. y Meuleman, P. (2015). Is HEV an emerging problem in industrialized countries? *Hepatology*, 62, pp: 1883-1892.
- Scallan, E., Griffin, P.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V. y Hoekstra, R.M. (2011). Foodborne illness acquired in the United States-unspecified agents. *Emerging Infectious Diseases Journal*, 17, pp: 16-22.
- Scallan, E., Mahon, B.E., Hoekstra, R.M. y Griffin, P.M. (2013). Estimates of Illnesses, Hospitalizations and Deaths Caused by Major Bacterial Enteric Pathogens in Young Children in the United States. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 32 (3), pp: 217-221.
- Scott, E. (2000). Relationship between cross-contamination and the transmission of foodborne pathogens in the home. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 19 (10), pp: S111-113.
- Semenza, J.C. y Nichols, G. (2007). Cryptosporidiosis surveillance and water-borne outbreaks in Europe. Euro Surveillance: Bulletin Européen Sur Les Maladies Transmissibles. *European Communicable Disease Bulletin*, 12, pp: 120-123.
- Shaker, R., Osaili, T., Al-Omary, W., Jaradt, Z. y Al-Zuby, M. (2007). Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacter* sp. from food and food production environments. *Food Control*, 18, pp: 1241-1245.
- SIM (2015). Sistema de Información Microbiológica. Instituto de Salud Carlos III. Disponible en: <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/sistema-informacion-microbiologica.shtml> [acceso: 4-11-15].

- Smith, A. (2011). Alimentos caseros para bebés: prepárelos de manera segura. Foodsafety.gov. Disponible en: <http://espanol.foodsafety.gov/blog/182t/alimentos-caseros-para-beb%C3%A9s.html> [acceso: 4-11-15].
- Smith, J.L. (2002). *Campylobacter jejuni* infection during pregnancy: long-term consequences of associated bacteremia, Guillain-Barré syndrome, and reactive arthritis. *Journal of Food Protection*, 65, pp: 696-708.
- Sockett, P.N. y Rodgers, F.G. (2001). Enteric and foodborne disease in children: A review of the influence of food- and environment-related risk factors. *Paediatrics & Child Health*, 6 (4), pp: 203-209.
- Sonbol, H., Joseph, S., McAuley, C.M., Craven, H.M. y Forshythe, S.J. (2013). Multilocus sequence typing of *Cronobacter* spp. from powdered infant formula and milk powder production factories. *International Dairy Journal*, 30, pp: 1-7.
- Stoll, B.J., Hansen, N., Fanaroff, A.A. y Lemons, J.A. (2004). *Enterobacter sakazakii* is a rare cause of neonatal septicemia or meningitis in VLBW infants. *Journal of Pediatrics*, 144, pp: 821-823.
- Strydom, A., Cawthorn, D.M., Cameron, M. y Witthuhn, R.C. (2012). Species of *Cronobacter*-A review of recent advances in the genus and their significance in infant formula milk. *International Dairy Journal*, 27, pp: 3-12.
- Stuart, R.L., Tan, K., Mahar, J.E., Kirkwood, C.D., Andrew Ramsden, C., Andrianopoulos, N., Jolley, D., Bawden, K., Doherty, R., Kotsanas, D., Bradford, J. y Buttery, J.P. (2010). An outbreak of necrotizing enterocolitis associated with norovirus genotype GII.3. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 29, pp: 644-647.
- Terio, V., Bottaro, M., Di Pinto, A., Catella, C., Chironna, M., Bozzo, G., Kingsley, D.H., Bonerba, E., Morea, A. y Martella, V. (2015). Outbreak of Hepatitis A in Italy Associated with Frozen Redcurrants Imported from Poland: A Case Study. *Food and Environmental Virology*, 7, pp: 1-4.
- Terragno, R., Salve, A., Pichel, M., Epsztejn, S., Brengi, S. y Binsztein, N. (2009). Characterization and subtyping of *Cronobacter* spp. from imported powdered infant formulae in Argentina. *International Journal of Food Microbiology*, 136, pp: 193-197.
- Thurm, V. y Gericke, B. (1994). Identification of infant food as a vehicle in a nosocomial outbreak of *Citrobacter freundii*: epidemiological subtyping by allozyme, whole-cell protein and antibiotic resistance. *Journal of Applied Bacteriology*, 76 (6), pp: 553-558.
- Trabulsi, L.R., Keller, R. y Gomes, T.A.T. (2002). Typical and Atypical Enteropathogenic *Escherichia coli*. *Emerging Infectious Diseases*, 8 (5), pp: 508-513.
- Tudela, E., Croizé, J.A., Lagier, A. y Mallaret M.-R. (2008). Surveillance microbiologique des échantillons de laits infantiles et des surfaces dans une biberonnerie hospitalière. *Pathologie Biologie*, 56, pp: 272-278.
- Turcios-Ruiz, R.M., Axelrod, P., St John, K., Bullitt, E., Donahue, J., Robinson, N. y Friss, H.E. (2008). Outbreak of necrotizing enterocolitis caused by norovirus in a neonatal intensive care unit. *Journal of Pediatrics*, 153, pp: 339-344.
- UE (2005). Reglamento (CE) N° 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. DO L 338 de 22 de diciembre de 2005, pp: 1-26.
- Van der Poel, W.H.M. (2014). Food and environmental routes of Hepatitis E virus transmission. *Current Opinion in Virology*, 4, pp: 91-96.
- Van Pelt, W., de Wit, M.S., Wannet, W.J.B., Ligtoet, E.J.J., Widdowson, M.A. y van Duynhoven, Y.T.H.P. (2003). Laboratory surveillance of bacterial gastroenteric pathogens in The Netherlands, 1991-2001. *Epidemiology and Infection*, 130 (3), pp: 431-441.
- Varga, L. (2011). Bacteriological quality of bottled natural mineral waters commercialized in Hungary. *Food Control*, 22, pp: 591-595.
- Vargas-Leguás, V., Rodríguez Garrido, R., Lorite Cuenca, R., Pérez-Portabella, S.Y. y Campins Martí, M. (2009). Guía para la elaboración de fórmulas infantiles en polvo en el medio hospitalario. Sistema de análisis de peligros y puntos de control críticos. *Anales de Pediatría*, 70 (6), pp: 586-593.
- Wang, F.T., Mast, T.C., Glass, R.J., Loughlin, J. y Seeger, J.D. (2010). Effectiveness of the Pentavalent Rotavirus Vaccine in Preventing Gastroenteritis in the United States. *Pediatrics*, 125, pp: e208-e213.

- Warren, B.R., Parish, M.E. y Schneider, K.R. (2006). Shigella as a Foodborne Pathogen and Current Methods for Detection in Food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46 (7), pp: 551-567.
- Wattiau, P., Boland, C. y Bertrand, S. (2011). Methodologies for *Salmonella enterica* subespecie. enterica subtyping: Gold standards and alternatives. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, pp: 7877-7885.
- Wilcox, M.H., Cook, A.M., Eley, A. y Spencer, R.C. (1992). *Aeromonas* spp as a potential cause of diarrhoea in children. *Journal of Clinical Pathology*, 45 (11), pp: 959-963.
- Woteki, C.E. y Kineman, B.D. (2008). Food Safety. En libro: *Nutrition in Pediatrics: Basic science, clinical applications*. Duggan, C., Warkins, J. y Walker, W.A. (eds.). BC Dekker.
- Yan, L., Feng, Q., Mei-ling, W. y Wei, W. (2012). Screening for Enterobacteriaceae Bacteria in Infant Formula Powder. *Journal of Northeast Agricultural University*, 19 (1), pp: 68-72.
- Yang, H.Y., Kim, S.K., Choi, S.Y., You, D.H., Lee, S.C., Bang, W.S. y Yuk, H.G. (2015). Effect of acid, desiccation and heat stresses on the viability of *Cronobacter sakazakii* during rehydration of powdered infant formula and in simulated gastric fluid. *Food Control*, 50, pp: 336-341.
- Zamberlan da Silva, M.E., Getirana Santana, R., Guilhermetti, M., Camargo Filho, I., Harua Endo, E., Ueda-Nakamura, T., Vatura Nakamura, C. y Prado Dias Filho, B. (2008). Comparison of the bacteriological quality of tap water and bottled mineral water. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 211, pp: 504-505.
- Zogaj, X., Bokranz, W., Nimtz, M. y Römling, U. (2003). Production of cellulose and curli fimbriae by members of the Family Enterobacteriaceae isolated from the human gastrointestinal tract. *Infection and Immunity*, 71, pp: 4151-4158.

Anexo I. Criterios microbiológicos de seguridad y de higiene que afectan a distintos alimentos y preparados destinados a lactantes y niños de corta edad

1. Criterios de seguridad

Categoría alimentos	Microorganismo/ sus toxinas, metabolitos	Plan de toma de muestras	Límites	Método analítico de referencia	Fase en la que se aplica el criterio
Alimentos listos para el consumo destinados a los lactantes ⁴	<i>Listeria monocytogenes</i>	n=10 c=0	Ausencia en 25 g	EN/ISO 11290-1	Productos comercializados durante su vida útil
1.22. Preparados deshidratados para lactantes y alimentos dietéticos deshidratados destinados a usos médicos especiales para lactantes menores de 6 meses	<i>Salmonella</i>	n=30 c=0	Ausencia en 25 g	EN/ISO 6579	Productos comercializados durante su vida útil
1.23. Preparados deshidratados de continuación	<i>Salmonella</i>	n=30 c=0	Ausencia en 25 g	EN/ISO 6579	Productos comercializados durante su vida útil
1.24. Preparados deshidratados para lactantes y alimentos dietéticos deshidratados destinados a usos médicos especiales para lactantes menores de 6 meses ¹⁴	<i>Cronobacter</i> spp. (<i>Enterobacter sakazakii</i>)	n=30 c=0	Ausencia en 10 g	ISO/TS 22964	Productos comercializados durante su vida útil

⁴En circunstancias normales, no se exige realizar pruebas regulares con respecto a este criterio para los siguientes productos alimenticios listos para el consumo: • los que hayan recibido tratamiento térmico u otro proceso eficaz para eliminar *L. monocytogenes*, cuando la recontaminación no sea posible tras este tratamiento (por ejemplo, productos tratados térmicamente en su envase final), • frutas y hortalizas frescas, enteras y no transformadas, excluidas las semillas germinadas, pan, galletas y productos similares, • aguas embotelladas o envasadas, bebidas refrescantes sin alcohol, cerveza, sidra, vino, bebidas espirituosas y productos similares, • azúcar, miel y golosinas, incluidos productos de cacao y chocolate, • moluscos bivalvos vivos.

¹⁴Se realizarán en paralelo análisis para la detección de Enterobacteriáceas y de *E. sakazakii*, a menos que se haya establecido una correlación entre estos microorganismos a escala de plantas concretas. Si se detectan Enterobacteriáceas en cualquiera de las muestras tomadas de tal planta, entonces se realizarán análisis en busca de *E. sakazakii*. El fabricante tendrá que demostrar, a satisfacción de la autoridad competente, si existe tal correlación entre las Enterobacteriáceas y *E. sakazakii*.

2. Criterios de higiene

Categoría alimentos	Microorganismo/sus toxinas, metabolitos	Plan de toma de muestras	Límites	Método analítico de referencia	Fase en la que se aplica el criterio	Acción en caso de resultados insatisfactorios
2.2.9. Preparados deshidratados para lactantes y alimentos dietéticos deshidratados destinados a usos médicos especiales para lactantes menores de 6 meses	<i>Enterobacteriaceae</i>	n=10 c=0	Ausencia en 10 g	ISO 21528-1	Final del proceso de fabricación	Mejoras en la higiene de la producción para minimizar la contaminación ⁹
2.2.10. Preparados deshidratados de continuación	<i>Enterobacteriaceae</i>	n=5 c=0	Ausencia en 10 g	ISO 21528-1	Final del proceso de fabricación	Mejoras en la higiene de la producción para minimizar la contaminación
2.2.11. Preparados deshidratados para lactantes y alimentos dietéticos deshidratados destinados a usos médicos especiales para lactantes menores de 6 meses	Presunto <i>Bacillus cereus</i>	n=5 c=1	m=50 ufc/g M=500 ufc/g	EN/ISO 7932 ¹⁰	Final del proceso de fabricación	Mejoras en la higiene de la producción. Prevención de la recontaminación. Selección de las materias primas

⁹Se realizarán en paralelo análisis para la detección de Enterobacteriáceas y de *E. sakazakii* a menos que se haya establecido una correlación entre estos microorganismos a escala de plantas concretas. Si se detectan Enterobacteriáceas en cualquiera de las muestras tomadas de tal planta, entonces se realizarán análisis en busca de *E. sakazakii*. El fabricante tendrá que demostrar, a satisfacción de la autoridad competente, si existe tal correlación entre las Enterobacteriáceas y *E. sakazakii*.

¹⁰Sobre una placa de Petri de 140 mm de diámetro o tres placas de Petri de 90 mm de diámetro se siembra 1 ml de inóculo.