

EVALUACIÓN DE RIESGOS DEL PAR *E. coli* / FILETE MIGNON EN UN RESTAURANTE DE LA RED HOTELERA.

René Tejedor^{*1}, Yamilé Padrón² y Virginia Leyva³

¹ Departamento de Alimentos Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL). Universidad de La Habana.

² Ministerio de Turismo (MINTUR).

³ Departamento de Microbiología. Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología (INHEM).

*e-mail: tejedor@ifal.uh.cu

Resumen

El trabajo realizado en un restaurante de la red hotelera tuvo como objetivo evaluar el riesgo del par *E. coli* / Filete Mignon, producto que requiere ser elaborado con carnes certificadas libres de patógenos debido a que los términos de cocción aplicados a solicitud del cliente pueden resultar de alto riesgo. El Análisis de Riesgos es una actividad sistemática que permite tomar decisiones sobre la inocuidad de los alimentos, siendo la Evaluación de Riesgos uno de sus componentes (FAO/OMS, 2007). Para ello se realizaron inspecciones higiénico-sanitarias desde la etapa de recepción de la carne hasta el servicio del plato, control de temperatura en el centro térmico del producto a los diferentes términos de cocción, análisis de microorganismos indicadores y patógenos a la carne almacenada en congelación, antes de la cocción “a la inglesa” y en el producto final. Para estimar la inactivación térmica de *E. coli* se aplicó el Programa de Modelación de Patógenos PMP 7,0 (USDA, 2015). Se evaluó la exposición de los clientes al riesgo en base a la demanda del plato a los diferentes términos de cocción. La caracterización del riesgo fue estimada empleando el programa de Ross-Sumner (2002). Se pudo comprobar que la carne posee los estándares microbiológicos, pero que durante las diferentes etapas de preparación puede resultar contaminada con microorganismos de origen intestinal como *E. coli*, cuando no se cumplen las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM). Se demostró que el término de cocción “a la inglesa” no es suficiente para lograr las reducciones logarítmicas necesarias de la carga microbiana, implicando un elevado Rango de Riesgo (74/100) para los clientes según el programa de Ross-Sumner (2002).

Palabras clave: Evaluación de riesgos, Filete Mignon, BPM, *E. coli*, inocuidad.

Risks assessment of the even *E. Coli* /fillet mignon in a restaurant of hotel net.

Abstract

The work carried out in a restaurant of hotel net had as objective to evaluate the risk of the even *E. coli* / Fillet Mignon, product that requires to be elaborated with certified meats free of pathogen because the applied cooking terms to application of the client can be of high risk. Risks Analysis is a systematic activity that allows making decisions on food safety, being the Risks Assessment one of its components (FAO/OMS, 2007). For they were carried out it hygienic-sanitary inspections from the stage of meat reception until the service of the plate, temperature control in the thermal center of the product to the different cooking terms, analysis of indicators and pathogen microorganisms to the meat stored in freezing, before cooking “a la inglesa” and in the end product.. To estimate the thermal inactivation of *E. coli* was applied the Pathogen Modeling Program PMP 7.0 (USDA, 2015). Risk exposition was evaluated from the clients based on the demand from the plate to the different cooking terms. Risk characterization was dear using the program of Ross-Sumner (2002). It could be proven that meat fulfills microbiological standard, but that during the different preparation stages it can be polluted with microorganisms of intestinal origin as *E. coli*, if there aren't Good Manufacturing Practices (GMP), It was demonstrated that cooking term “a la inglesa” is not enough to achieve the necessary logarithmic reductions of the microbial load, implying a high Range of Risk (74/100) for the clients, according to the program of Ross-Sumner (2002).

Key words: Risks Assessments, Fillet Mignon, GMP, *E. coli*, Food Safety.

Introducción

En Cuba la gestión de restauración ha alcanzado un elevado desarrollo y actualmente es base de todas las entidades que prestan servicio de alimentos y bebidas (A+B) a diferentes clientes. Los cambios registrados en cuanto a la producción alimentaria, el comercio internacional, la tecnología y las expectativas públicas de protección sanitaria y muchos otros factores han creado un entorno mucho más exigente para el sistema de inocuidad de los alimentos en las redes hoteleras.

En los años venideros se espera que siga incrementándose el flujo de turistas hacia nuestro país por lo cual es vital contar con instalaciones hoteleras que mantengan la calidad sanitaria del servicio de alimentos, La pérdida de inocuidad conduce a un estado negativo de opinión en el cliente que regresa a su lugar de origen, influyendo en el índice de repitencia a la instalación.

El Análisis de Riesgos es una actividad sistemática que permite tomar decisiones sobre la inocuidad de los alimentos y está conformado por tres componentes: la gestión de riesgos, la evaluación de riesgos y la comunicación de riesgos, constituyendo una poderosa herramienta para la realización de análisis con base científica y para la búsqueda de soluciones sólidas y coherentes a los problemas de

inocuidad de los alimentos. El uso del Análisis de Riesgos puede promover mejoras constantes en instalaciones donde se elabora y se sirve alimentos. La Evaluación de Riesgos es el componente científico central del Análisis de Riesgos y ha surgido fundamentalmente como consecuencia de la necesidad de tomar decisiones para proteger la salud en un contexto de incertidumbre científica. La evaluación de riesgos puede describirse generalmente como la determinación de los posibles efectos adversos para la vida y la salud resultantes de la exposición a peligros durante un determinado período de tiempo. En particular la Evaluación de Riesgos consiste en un proceso científico de cuatro pasos: i) identificación de peligros; ii) caracterización de peligros; iii) evaluación de exposición y iv) caracterización de riesgos. (FAO/OMS, 2007).

Para llevar a cabo la evaluación de riesgos microbiológicos suelen emplearse modelos matemáticos de Microbiología Predictiva como el Programa de Modelación de Patógenos PMP 7,0 (USDA, 2015).

El Filete Mignon, es el rey de los cortes, gracias a sus cualidades de textura, ternura y jugosidad. Los métodos de cocción para el Filete Mignon más habituales son a la parrilla o a la plancha, haciéndolo a altas temperaturas para que el exterior experimente la reacción de Maillard y potencie su sabor, y su interior quede poco hecho y jugoso, aunque el punto de cocción de la carne siempre debe estar al gusto del comensal. Se definen tres términos de cocción (Fernández *et al.*, 2009):

Término rojo o “a la inglesa”: corte sellado por ambos lados a fuego alto, la capa externa bien cocida, el centro crudo e inclusive frío, alcanzando en el centro térmico hasta 60°C (Figura 1).



Figura 1. Filete Mignon cocido “a la inglesa”.

Término tres cuartos o “a la francesa”: la carne comienza a perder jugosidad y con ella el sabor, el centro del corte se torna café claro, con las orillas perfectamente cocidas, alcanzando una temperatura de 71°C.

Término bien cocido o “a la española”: la carne pierde hasta un 70 % de jugosidad quedando algo dura aunque sea un corte de calidad, todo el corte toma un color café-gris y prácticamente sin jugo, alcanzando más de 77°C en su centro térmico.

A estos procedimientos se asocian riesgos microbiológicos, teniendo en cuenta que no siempre se alcanzan las temperaturas adecuadas a la cual mueren los microorganismos patógenos que pueden estar presentes en las carnes. (Manual de BPM para la Industria de la Carne, 2007).

Escherichia coli es una bacteria que constituye parte normal de la microbiota residente del tracto intestinal de los seres humanos y animales, usándose como indicador de contaminación de origen fecal del agua y los alimentos. Se reportan varios serotipos de cepas patógenas de *Escherichia coli*, subdivididos en seis grupos según su capacidad para producir toxinas, adherirse e invadir las células epiteliales del intestino: *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) y *E. coli* de adhesión difusa (DAEC). (FDA, 2012)

En Cuba las intoxicaciones e infecciones originadas por diversos serotipos de *Escherichia coli* se encuentran entre las cinco primeras causas de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA). (Puñales y Leyva, 2013)

En el presente trabajo se plantea como objetivo evaluar el riesgo que puede significar para los consumidores el par *E. coli* / Filete Mignon a diferentes términos de cocción.

Materiales y Métodos

El estudio fue realizado en un restaurante especializado de la red hotelera categorizado con cuatro tenedores, con servicio a la carta y capacidad para 70 comensales.

El producto Filete Mignon se distribuye a través de la principal comercializadora mayorista de la rama turística en Cuba ITH S.A. Su presentación es en cajas de ocho bolsas envasadas al vacío y congeladas con un peso máximo de 2 Kg cada una.

Evaluación de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM)

Se realizaron tres inspecciones y se observaron las diferentes etapas en la preparación del plato para valorar los peligros potenciales para la inocuidad mediante la Guía de inspección sanitaria para instalaciones hoteleras (MINSAP/MINTUR, 2003). Con el objetivo de comprobar la higiene del personal se efectuaron 10 observaciones de manera discontinua, para lo cual se confeccionó una Lista de chequeo que responde a las exigencias plasmadas en el reglamento de uniformidad del Manual de Gestión de Meliá Cuba (2012).

Análisis microbiológico

Las muestras para los análisis microbiológicos fueron tomadas por triplicado en las etapas de congelación, antes de la cocción y en el plato elaborado a la inglesa. Las mismas fueron colocadas en bolsas de nylon de primer uso y posteriormente fueron introducidas en una segunda bolsa y

mantenidas en congelación durante su traslado al Laboratorio en un termo adecuado en un tiempo de 6 horas.

Los análisis microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de los Alimentos del Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología (INHEM) evaluándose microorganismos indicadores y patógenos, según las siguientes normas:

- Enumeración de microorganismos a 30°C. Técnica de placa vertida (NC ISO 4833:2002).
- Guía general para la enumeración de coliformes. Técnica de placa vertida. (NC ISO 4832:2010). Determinación cuantitativa de coliformes a 45 0C (NC 38-02-14:89).
- Método Horizontal para la enumeración de *Escherichia coli* β -glucoronidasa positiva ISO 16649-2:2001.
- Método horizontal para la enumeración de *Staphylococcus* coagulasa positiva NC ISO 6888-1:2003.
- Guía para la detección de *Salmonella* en 25 g (NC ISO 6579: 2008).

Identificación y caracterización del peligro

Se consideró el par *Escherichia coli*/Filete Mignon teniendo en cuenta que esta especie posee serotipos patógenos que se encuentran entre las primeras causas de ETA en Cuba y los resultados de la inspección sanitaria y los análisis microbiológicos.

Se realizaron mediciones de temperatura en el centro térmico durante el proceso de elaboración para cada término de cocción empleando termómetros digitales. Mediante el Programa de Modelación de Patógenos PMP 7,0 del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) se estimó la cinética de inactivación térmica de *E. coli*, considerando la temperatura media alcanzada en el centro térmico durante el proceso de cocción “a la inglesa”, el pH y aw de la carne y el propósito de lograr tres reducciones logarítmicas de la carga microbiana.

Evaluación de la exposición

Para evaluar la exposición se cuantificó la cantidad de comensales que asistieron al restaurante especializado en un período de 20 días y los pedidos de Filete Mignon según el término de cocción, estimándose el total de clientes potenciales expuestos al riesgo durante la temporada alta del año 2014.

Caracterización del riesgo.

Con los resultados obtenidos en las etapas de estudio anteriormente mencionadas se aplicó el programa semicuantitativo de Ross y Sumner (2002) para la caracterización del riesgo.

Resultados

Evaluación de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) En las inspecciones sanitarias se reportaron varias deficiencias, aunque estas fueron disminuyendo hasta alcanzar solo 16 puntos negativos en la tercera inspección como se muestra en la figura 2.

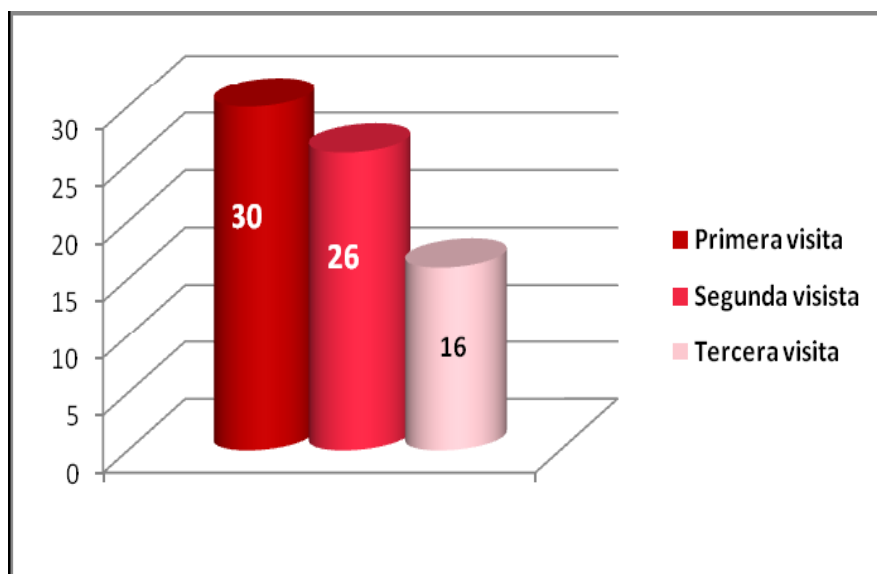


Figura 2. Calificaciones de las condiciones higiénico-sanitarias según la Guía de Inspección MINSAP-MINTUR (2003).

Las principales deficiencias, clasificadas de importancia vital en la guía fueron: existencia de entrecruzamientos por incumplimientos del principio de marcha adelante, falta de termómetros y registros de temperatura, deficiencias en la limpieza y desinfección de utensilios e incumplimiento de algunos requerimientos establecidos para el adecuado lavado y desinfección de las manos del personal.

En la figura 3 se muestran seis aspectos negativos detectados en la higiene de los manipuladores a partir de la aplicación de la Lista de chequeo basada en el Manual de Calidad Meliá Cuba (2012), notándose que el lavado de manos no se cumple en un 22,9% de las observaciones.

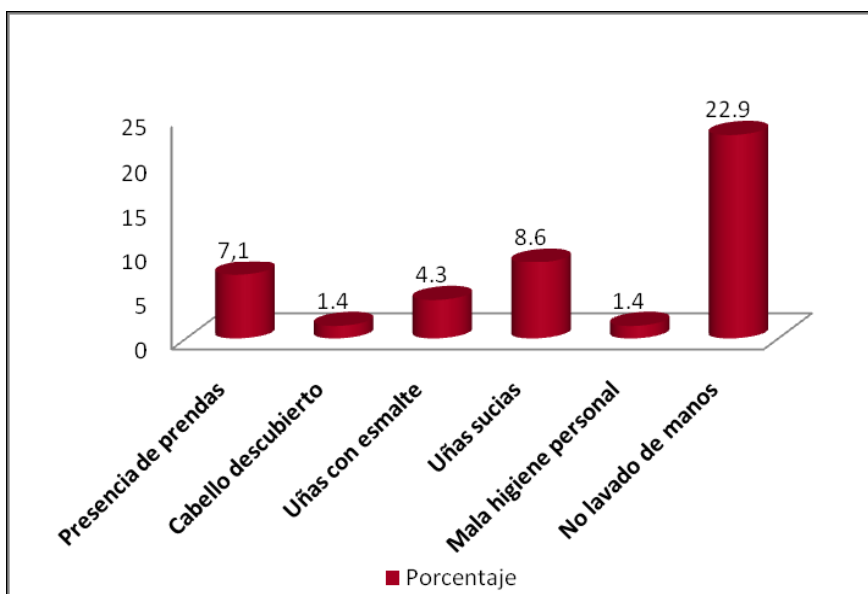


Figura 3. Aspectos negativos de mayor incidencia en la higiene de los manipuladores.

Análisis microbiológico

Los resultados de los análisis microbiológicos se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de los análisis microbiológicos en muestras crudas congeladas, crudas antes de la cocción y cocidas a la inglesa.

No.	Tipo de muestra	1	2	3	4	5	6
01	Cruda congelada	$5,2 \times 10^5$	$3,5 \times 10$	<10	<10	$<10^2$	Ausencia
02	Cruda congelada	$5,7 \times 10^5$	$3,1 \times 10$	<10	<10	$<10^2$	Ausencia
03	Cruda congelada	$4,8 \times 10^5$	$2,8 \times 10$	<10	<10	$<10^2$	Ausencia
04i	Cruda antes de la cocción	$>3,0 \times 10^7$	$>1,5 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	$1,8 \times 10^2$	$<10^2$	Ausencia
04f	Cocida "a la inglesa"	$>3,0 \times 10^7$	$>1,5 \times 10^3$	$1,2 \times 10^3$	$1,4 \times 10^2$	$<10^2$	Ausencia
05i	Cruda antes de la cocción	$>3,0 \times 10^7$	$>1,5 \times 10^3$	$>1,5 \times 10^3$	$3,7 \times 10^2$	$<10^2$	Ausencia
05f	Cocida "a la inglesa"	$>3,0 \times 10^7$	$>1,5 \times 10^3$	$>1,5 \times 10^3$	$3,4 \times 10^2$	$<10^2$	Ausencia
06i	Cruda antes de la cocción	$8,2 \times 10^6$	$6,5 \times 10^2$	$1,6 \times 10^2$	$3,6 \times 10$	$<10^2$	Ausencia
06f	Cocida "a la inglesa"	$7,6 \times 10^6$	$6,1 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$	$3,2 \times 10$	$<10^2$	Ausencia

Leyenda: 1. Microorganismos a 30°C, 2. Coliformes totales, 3. Coliformes a 45°C, 4. *E. coli*, 5. *Staphylococcus coagulasa* (+), 6. *Salmonella* spp.

Caracterización del peligro

Los valores de temperatura en el centro térmico del producto durante la cocción a los diferentes términos se muestran en la tabla 2. Puede apreciarse que la temperatura media que se alcanza en los diferentes términos de cocción resulta ligeramente inferior a la temperatura normada.

Tabla 2. Temperaturas registradas en el centro térmico del Filete Mignon a los diferentes términos de cocción.

Términos de cocción	T normada (°C)	No. de muestras	T media (°C)	Rango de T (°C)
Inglesa	60	29	58	55-62
Francesa	71	17	70	66-72
Española	77	25	76	70-79

Con el empleo del Programa de Modelación de Patógenos PMP 7.0 (USDA) y considerando que la carne posee un pH 5,5 y una actividad de agua de 0,998, se calculó el tiempo estimado requerido para lograr dos o tres reducciones logarítmicas del número de células de *E. coli*, teniendo en cuenta el nivel de la contaminación encontrada en las carnes contaminadas y cocinadas a la inglesa, a la temperatura media de 58°C, a los valores extremos de 55 y 62°C registrados y a la temperatura normada de 60°C.

Tabla 3. Cinética de inactivación térmica de *E. coli* en carne cocida “a la inglesa” a diferentes temperaturas según el programa PMP 7.0 (pH: 5,5; aw: 0,998)

T (°C)	Tiempo (min) de reducción de 2 log₁₀	Tiempo (min) de reducción de 3 log₁₀	Límite inferior de confiabilidad	Límite superior de confiabilidad
55	14,3	-	11,3	18,0
	-	21,4	17,0	27,1
58	6,1	-	4,6	7,9
	-	9,1	7,3	11,4
60	3,0	-	2,3	3,9
	-	4,5	3,5	5,9
62	1,3	-	1,0	1,8
	-	2,0	1,5	2,7

En el curso del trabajo se pudo comprobar que en la práctica el tiempo de cocción variaba de 1,5 a 3 minutos.

Evaluación de la exposición

En los 20 días estudiados se cuantificaron 1 400 comensales en el restaurante, por lo que de mantenerse esa frecuencia de visitas en los seis meses de temporada alta, habría un estimado de 12 600 comensales por año.

El plato de Filete Mignon fue demandado por 73 clientes en el periodo analizado de 20 días, lo cual representa el 5,2% de los platos consumidos. Del total de consumidores en el periodo de estudio 31 clientes solicitaron el producto “a la inglesa”, representado un 42%, mientras que 17 y 25 huéspedes eligieron consumir el mismo “a la francesa” y “a la española” respectivamente, para un 23,3% y 34,2%. El estimado de clientes que consumirían el producto durante la temporada alta “a la inglesa” sería de 279, “a la francesa” 153 y “a la española” 225.

Caracterización del riesgo

Al aplicar el programa de Ross-Sumner (2002) se obtuvieron los siguientes resultados (tabla 4).

Tabla 4. Riesgos estimados del consumo de Filete Mignon elaborado a diferentes términos de cocción según el programa de Ross-Sumner (2002).

Términos de cocción	Inglesa	Francesa	Española
Probabilidad de enfermar/consumidor/día	$5,70 \times 10^{-2}$	$2,85 \times 10^{-4}$	$5,70 \times 10^{-6}$
Predicción del número total de enfermedades en la población de interés/año	$1,31 \times 10^4$	$6,55 \times 10$	1,31
Riesgo Comparativo	$2,85 \times 10^{-5}$	$1,42 \times 10^{-7}$	$2,85 \times 10^{-9}$
Rango de Riesgo (0 a 100)	74	61	51

Puede observarse en el caso del término de cocción “a la inglesa” que todos los indicadores evaluados por el programa para la caracterización de riesgos resultan elevados, a diferencia de los otros platos.

Discusión

El análisis microbiológico de la carne recepcionada en la instalación demuestra una calidad sanitaria aceptable, por cuanto cumple los requisitos del indicador “microorganismos a 30°C” para las carnes crudas, según la NC 585:2015. Además los recuentos de coliformes totales y coliformes a 45°C no fueron significativos, no evidenciándose presencia de *Escherichia coli*, *Staphylococcus coagulasa* (+) ni *Salmonella.spp*.

Si bien no se encontraron hallazgos de microorganismos en la carne almacenada en congelación a -18°C, lo que demuestra la calidad de las carnes certificadas por los proveedores, se evidencia que esta puede contaminarse de manera creciente durante el proceso de elaboración por incumplimientos de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), durante las etapas de traslado a la cámara de descongelación, corte en porciones en la carnicería, traslado al área de preparación y mantenimiento en refrigeración hasta el momento de la cocción.

A través de las evaluaciones realizadas se detectaron las posibles causas de la referida contaminación, tales como la existencia de contaminaciones cruzadas y fallos en los Procedimientos Operacionales Estándar de Saneamiento (POES). El inadecuado lavado y desinfección de las manos del personal (22,9%) incidió de manera notable en la contaminación de la carne por bacterias de origen intestinal, como quedó demostrado a través de los elevados conteos microbianos en las muestras de carne antes de ser sometidas a cocción.

Los manipuladores de alimentos deben conocer que en dependencia de su comportamiento sobre la higiene personal y dentro de ello el lavado frecuente y correcto de las manos, pueden propiciar que los alimentos lleguen a sus clientes en buenas o malas condiciones higiénicas, por lo que sigue siendo esta la forma de contaminación cruzada más frecuente (Tejedor, 2013).

Los reportes de la Dirección Nacional de Salud Ambiental del Ministerio de Salud Pública de Cuba, correspondientes al periodo 2005-2009 ilustran claramente el papel de los manipuladores de alimentos en la ocurrencia de brotes de ETA en el país. Al considerar el lugar donde los alimentos perdieron su inocuidad se reporta que un 20% de los brotes se debieron a deficiencias en la manipulación comercial. En relación con los factores de contaminación se evidenció que el 19% de los brotes tuvieron como causa la manipulación de los alimentos por personas infectadas y en un 34 % intervino la contaminación cruzada (Puñales y Leyva, 2013).

Así, las muestras 4i, 5i y 6i, presentan una contaminación inaceptable, teniendo en cuenta el criterio de "microorganismos a 30°C" para la carne cruda, según la NC 585:2015. Además al ejecutarse los análisis de coliformes totales, coliformes a 45°C y *Escherichia coli* en esas muestras de carne, aunque no existen criterios estandarizados para estos microorganismos en la NC 585:2015 para la carne cruda, los resultados son demasiado altos en comparación con otros productos cárnicos referidos en la norma en cuestión.

En las muestras cocidas a la inglesa, 4f, 5f y 6f, todos los indicadores evaluados se mantuvieron en el mismo orden, lo que refleja que la cocción del Filete Mignon elaborado "a la inglesa" no es suficiente para eliminar la carga microbiana que está presente en la carne cruda. Al comparar los resultados con los criterios microbiológicos según la NC 585:2015 para el grupo de alimentos listos para el

consumo; se incumple con los indicadores de microorganismos a 30°C, coliformes a 45°C y *Escherichia coli*.

Estos resultados indican que se debe ser muy exigente en el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura de las carnes durante su procesamiento una vez salidas del almacén, evitando así la proliferación de los microorganismos en su elaboración.

Quedó evidenciado que no todas las preparaciones culinarias del plato alcanzan la temperatura adecuada en su centro térmico, factor de vital importancia ya que *Escherichia coli* es sensible al calor, por lo que la cocción adecuada eliminaría la misma en caso de existir la temperatura correcta en el centro térmico durante la cocción.

Al evaluar la cinética de inactivación térmica mediante el Programa de Modelación de Patógenos PMP 7.0 (USDA) se corroboraron los resultados obtenidos en la investigación. Resulta imposible, según este modelo predictivo, realizar reducciones de dos o tres logaritmos de unidades formadoras de colonias de *E. coli* por gramo de producto, si como máximo el tiempo de cocción llega a tres minutos a la temperatura media registrada para la cocción del Filete Mignon “a la inglesa”. Para ello sería necesario duplicar o triplicar el tiempo. Resulta obvio que en el caso de las temperaturas inferiores reportadas, la probabilidad de llevar a cabo tales reducciones decimales del número de células resulta significativamente menor.

Los resultados de estimación de riesgo para el método de cocción “a la inglesa” brindan una predicción de un riesgo muy alto (74/100) en comparación con los estándares de 60-63 para países industrializados (Ross y Sumner, 2002), por lo cual deben considerarse opciones de gestión y comunicación de riesgo por parte de los gestores del hotel, con el objetivo de garantizar la inocuidad de este plato. En los casos de la cocción “a la francesa” y “a la española” los rangos de riesgo reflejan la baja probabilidad de ocurrencia de un brote de ETA por *Escherichia coli* asociado al consumo de Filete Mignon.

El término de cocción normado de 60 °C del Filete Mignon “a la inglesa” no se alcanzó en el 43,4%, lo cual incide en la no eliminación de la carga microbiana del alimento, evidenciando que no existe una preocupación por los manipuladores en relación con el control de las temperatura de cocción.

Literatura citada

- FAO/OMS. Análisis de Riesgos relativos a la Inocuidad de los Alimentos. Guía para las autoridades nacionales de Inocuidad de los Alimentos. Estudio FAO-Alimentación y Nutrición. No. 87; Roma, 2007.
- FDA. Bad Bug Book. Food Borne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. 2nd Edition. 2012: 69
- Fernández, M; Fleitas, Y; Suarez, D y León, A. Tecnología de cocina. Ed. Santa Clara. 2009, 51.
- Manual de BPM para la Industria de la Carne. Sección 1. Aplicación de los principios de análisis de riesgos para el sector cárnico, 2007.
- Manual de Calidad Meliá Cuba. 2012.
- MINSAP-MINTUR. Guía de inspección sanitaria para instalaciones hoteleras. 2003.
- NC ISO 16649-2: 2001. Método horizontal para la enumeración de *Escherichia coli* β -glucuronidasa positiva. Parte 2. Técnica de conteo de colonias a 44°C, usando 5-bromo-4-cloro-3-indol- β -D-glucorónido. 2001.
- NC 38-02-14:89. Determinación cuantitativa de coliformes a 45°C. 1989.
- NC 585:2015. Contaminantes microbiológicos en alimentos. Requisitos sanitarios. 2015.
- NC ISO 4832:2010. Guía general para la enumeración de coliformes. Técnica de placa vertida. 2010.
- NC ISO 4833: 2002. Enumeración de microorganismos a 30°C. Técnica de placa vertida. 2002.
- NC ISO 6579: 2008. Guía para la detección de *Salmonella* en 25 g. 2008.
- NC ISO 6888-1:2003. Método horizontal para la enumeración de *Staphylococcus* coagulasa positiva. 2003.
- Puñales, O y Leyva, V. Situación de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos. En: El análisis de riesgos como base de los sistemas de inocuidad de los alimentos. CDGC-FAO, La Habana, 2013, 64-78.
- Ross, T. y Sumner, J., 2002. "A simple, spreadsheet-based, food safety risk assessment tool". International Journal of Food Microbiology 2002, 77: 39-53.
- Tejedor, R. Evaluación de riesgos en la manipulación de alimentos. En: El análisis de riesgos como base de los sistemas de inocuidad de los alimentos. CDGC-FAO, La Habana, 2013, 169-187.
- USDA. Pathogen Modeling Program PMP version 7.0 for Windows. 2015.