

Influencia de la temperatura de almacenamiento sobre el destino de *Listeria monocytogenes* en salchicha de pavo comercializada en México

Castañeda Ruelas, G.M¹., Jiménez Edeza, M¹., y Castillo Burgos, M¹.

¹Facultad de Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Prolongación Josefa Ortiz de Domínguez S/N, Ciudad Universitaria, 80040, Culiacán, Sinaloa, México.

Tel:+52(667)7137860. Correo: gloria.ruelas@uas.edu.mx

Palabras Clave: cinética, embutidos, Listeriosis, refrigeración.

Introducción

La listeriosis es reconocida como una enfermedad de transmisión alimentaria (ETA), y ésta es causada por la bacteria *Listeria monocytogenes*. La listeriosis puede incluir manifestaciones severas como septicemias, meningitis o abortos [1]. La Organización Mundial de la Salud estima una incidencia anual de 0.1 a 11 casos de listeriosis por cada millón de habitantes, con una tasa de mortalidad del 20-30 % [2]. Los alimentos considerados como principales vehículos de transmisión de *L. monocytogenes* son los productos lácteos sin pasteurizar y los productos cárnicos listos para el consumo [1].

L. monocytogenes representa un reto para la industria alimentaria debido a su carácter saprófito, su crecimiento en temperatura de refrigeración (psicrófilo), la resistencia al ácido y a las concentraciones altas de sal. Estos atributos le permiten sobrevivir y multiplicarse en condiciones que se aplican en la producción, conservación y ciertos alimentos [2]. Además, se ha evidenciado la capacidad de la bacteria para incrementar su población y permanecer por días a bajas temperaturas en ciertos productos cárnicos [3]. La salchicha es un alimento cárnico cocido con composición química y temperatura de almacenamiento (4 °C), que representan condiciones potenciales para soportar el crecimiento de *L. monocytogenes*. Adicionalmente, su clasificación como alimento listo para el consumo compromete a incrementar el riesgo de adquirir ETA, si el producto está contaminado. En este sentido, las buenas prácticas higiénicas para el manejo y almacenamiento del alimento dan las pautas para su control [2,4]. No obstante, en la literatura se ha señalado que el abuso de la temperatura de almacenamiento por parte de la industria o el consumidor es una de las principales prácticas que vulneran la inocuidad de los alimentos en relación con *L. monocytogenes* [3].

En México, la Dirección General de Epidemiología no considera a la listeriosis como enfermedad de tipificación obligatoria. No obstante, ciertos reportes científicos han notificado casos de listeriosis en México [5]. Por otra parte, la presencia de *L. monocytogenes* como agente contaminante de los alimentos lácteos y embutidos ha sido ampliamente expuesta en el país [5]. Particularmente, la relación de *L. monocytogenes* con los embutidos ha tomado especial atención en el país debido a la prevalencia del patógeno reportada en los embutidos [4,5], y al aumento en el consumo (8.0 kg) per cápita de estos productos a nivel nacional [6]. La NOM-213-SSA1-2018 establece las disposiciones y especificaciones sanitarias de los embutidos, y señala que la temperatura de almacenamiento de embutidos cocidos listos para el consumo es de 4 °C. No obstante, las prácticas de almacenamiento de los embutidos pudiesen no cumplirse en el comercio y los hogares.

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es evaluar la influencia de la matriz alimentaria y la condición de almacenamiento (temperatura y tiempo) de la salchicha sobre el crecimiento de *L. monocytogenes*, con el fin de definir la participación de los embutidos como alimentos para la transmisión de *L. monocytogenes* y proponer medidas de mejora para el almacenamiento del producto durante su vida de anaquel.

Metodología

Preparación del alimento

Las muestras de salchicha de pavo correspondieron a un producto de marca nacional, envasado (500 g), con vida de anaquel vigente y almacenado a 5 °C. Para descartar la presencia de *L. monocytogenes*, el

alimento se sometió en un microondas (110 V por 75 s) [7] y posteriormente se realizó un análisis microbiológico. En condiciones asépticas, se colocaron porciones de 100 ± 5 g de salchichas (rodajas de 2 cm^3) en bolsas herméticas estériles.

Suspensión bacteriana

Una cepa de *Listeria monocytogenes* (ATCC 4476) se incluyó para este estudio. La cepa se cultivó en caldo de soya tripticaseína (TSB) a 37°C por 24 h. El cultivo fue centrifugado ($9,800 \text{ xg}$ por 10 min a 10°C), y la pastilla se resuspendió en búfer de fosfato estéril (PBS) para ajustar una concentración a $1.0 \times 10^5 \text{ UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$. Las bolsas con las piezas de salchichas se inocularon con la suspensión bacteriana estandarizada y se almacenaron en un gabinete de bioseguridad previo a su almacenamiento.

Evaluación del crecimiento bacteriano a diferentes temperaturas

Las temperaturas seleccionadas en este estudio correspondieron al valor idóneo de almacenamiento (5°C) y a valores que representan el abuso de temperatura en el comercio o el hogar (25°C y 10°C). Las muestras de salchicha (100 ± 5 g) se almacenaron a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $10 \pm 1^\circ\text{C}$ y $5 \pm 1^\circ\text{C}$, y la concentración de *L. monocytogenes* se examinó en el día 0, 2, 4, 8, 16 y 32. Los ensayos se realizaron por duplicado. La concentración de *L. monocytogenes* se expresó en LogUFC/g por día. Adicionalmente, se calculó el tiempo de adaptación, la velocidad de crecimiento, el tiempo de generación y la concentración máxima de población utilizando la ecuación de Gompertz: $N = A + C * e(-e(-B(t-M)))$. Donde N es la concentración en el tiempo ($\text{LogUFC}\cdot\text{g}^{-1}$), A es la concentración inicial ($\text{LogUFC}\cdot\text{g}^{-1}$), C es el valor de la asíntota inferior ($\text{Log UFC}\cdot\text{g}^{-1}$), B es la tasa de crecimiento relativo máximo (h^{-1}) y M es el tiempo de la tasa de crecimiento absoluta máxima (h^{-1}).

Análisis estadístico

Para el crecimiento de *L. monocytogenes* se realizó una ANOVA de dos factores (tiempo y temperatura). La significación estadística se juzgó a un nivel de $P < 0.05$ (Minitab19). Los cálculos de los parámetros cinéticos y el modelo de Gompertz se realizaron utilizando los programas Statistica 13.

Resultados y discusión

La salchicha es un alimento que soporta el crecimiento de *L. monocytogenes* (ATCC 7644), cuya concentración está condicionada por la temperatura y el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0.05$) (Tabla 1). La concentración inicial de *L. monocytogenes* inoculada en las muestras de salchicha fue $2.29 \pm 0.08 \text{ Log UFC/g}$ para las diferentes temperaturas ($P < 0.05$). Mientras que, la concentración máxima observada fluctuó entre las temperatura y días de almacenamiento ($P < 0.05$): 8.27 Log UFC/g (día 32) para 10°C y 9.89 Log UFC/g (día 4) para 25°C . A 5°C , la concentración permaneció estable durante el tiempo de evaluación. La Figura 1 ilustra las etapas de crecimiento de la cepa de *L. monocytogenes* (ATCC 7644) en la salchicha almacenada a 5°C , 10°C y 25°C durante 32 días. Brevemente, la población de *L. monocytogenes* creció a 10°C y 25°C , y sobrevivió a 5°C .

Tabla 1. Comportamiento de *L. monocytogenes* (LogUFC/g) en salchicha almacenada a 5°C , 10°C y 25°C .

Día	5°C	10°C	25°C
0	2.40 ± 0.00^a	2.25 ± 0.02^a	2.23 ± 0.00^a
2	1.90 ± 0.00^a	2.19 ± 0.06^a	6.48 ± 0.02^b
4	1.59 ± 0.16^a	1.86 ± 0.12^a	9.89 ± 0.04^d
8	2.24 ± 0.91^a	6.50 ± 0.02^b	9.42 ± 0.12^d
16	2.39 ± 0.12^a	7.46 ± 0.03^c	9.74 ± 0.07^d
32	2.08 ± 0.11^a	8.27 ± 0.01^c	9.59 ± 0.08^d

Los valores están expresados como el promedio \pm desviación estándar de la concentración (de Log UFC/g). Los valores que no comparten letra son estadísticamente significativos ($P < 0.05$).

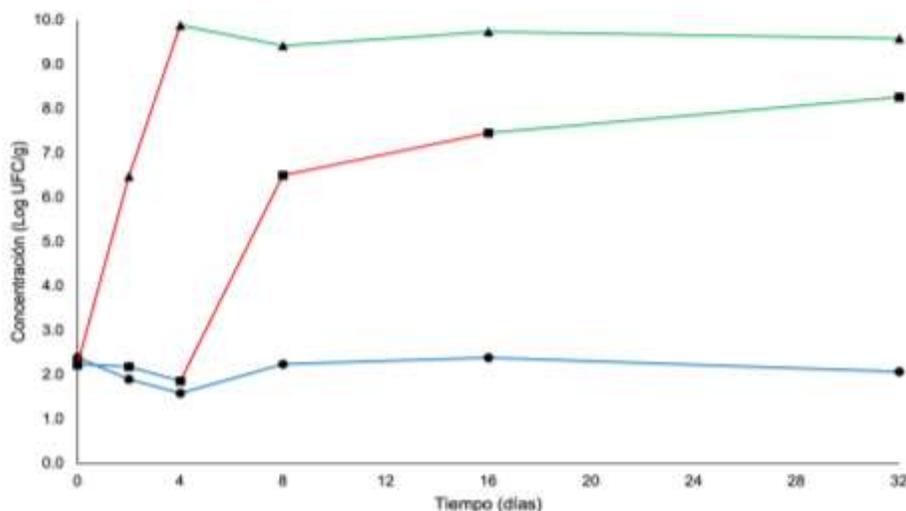


Figura 1. Comportamiento de *L. monocytogenes* (ATCC 7644) en la salchicha almacenada a 5 °C (●), 10 °C (■) y 25 °C (▲) durante 32 días. La coloración de las líneas indica la etapa de crecimiento: azul (fase de adaptación), rojo (fase de crecimiento) y verde (fase estacionaria).

El modelo de Gompertz indicó que el aumento de la temperatura de almacenamiento disminuye el tiempo de adaptación y el tiempo de generación, pero, aumenta la tasa de crecimiento de la cepa evaluada (Tabla 2). El modelo de Gompertz se descartó para el análisis del comportamiento de *L. monocytogenes* en salchicha almacenada a 5 °C dado la estabilidad de la concentración durante el tiempo de evaluación.

Tabla 2. Parámetros de cinética de crecimiento calculados por la ecuación de Gompertz en salchicha.

Parámetro	Unidad	10 °C	25 °C
Tiempo de adaptación	h	130.8	1.0
Tiempo de generación	h	123.4	3.1
Velocidad de crecimiento	h ⁻¹	0.077	4.5

En México, la prevalencia de *L. monocytogenes* en muestras de salchicha se ha estimado hasta 14 % [5]. Recientemente en México, la industria alimentaria ha adoptado la política de cero tolerancia (ausencia en 25 g de alimento) de *L. monocytogenes* en los productos cárnicos cocidos a través de la NOM-213-SSA1-2018. No obstante, la presencia de la bacteria en paquetes envasado de salchicha ha sido demostrada en el país [4]. Dado este escenario resulta relevante valorar la influencia de la temperatura sobre el crecimiento del patógeno dado que es el principal factor que regula la velocidad de la tasa de crecimiento. *L. monocytogenes* es una bacteria considerada psicrófilo [8], lo cual significa que su crecimiento óptimo es a temperaturas bajas, tal cual se observa en este estudio.

Previamente, Byelashov [3] identificaron una tasa de crecimiento de *L. monocytogenes* en muestras de salchicha cruda de pavo fue de 0.08 Log UFC/cm² por día, y señalan un aumento de 5 LogUFC al día 60, cuando el producto fue almacenado a 4°C. Así mismo, estos autores señalan que el abuso de temperatura incrementa la población de *L. monocytogenes* en el alimento. El análisis de Gompertz permitió describir el comportamiento de la bacteria, y la influencia de la temperatura sobre la tasa de crecimiento. El abuso de la temperatura (10 y 25 °C) promueve que la bacteria establezca periodos de adaptación y tiempos de generación pequeños, lo cual le permite el incremento de su población (Tabla 2). En este sentido, Szczawiński [8] indican que la temperatura de almacenamiento modula la tasa de crecimiento de *L. monocytogenes* inoculada en jamón cuando es almacenado en un rango de temperatura de 3 °C (8.0×10^{-4} UFC/h) a 15 °C (1.2×10^{-2} UFC/h), y que a 3 °C se observa como una temperatura segura para el control microbiológico del alimento.

La capacidad de *L. monocytogenes* de crecer (10 °C y 25 °C) y sobrevivir (5 °C) en la salchicha (Figura 1) advierte sobre la importancia de que la industria alimentaria y el consumidor manejen el alimento adherido a buenas prácticas higiénicas y conserven la cadena de frío. Adicionalmente, el aplicar medidas de control microbiológico en alimentos listos para el consumo previo a que sean ingeridos resulta una estrategia idónea para minimizar el riesgo de enfermedades infecciosas [7].

Conclusiones

Listeria monocytogenes puede sobrevivir o crecer en salchicha almacenada en un rango de temperatura de 5 – 25 °C, y cuyo crecimiento está modulado positivamente por el aumento de la temperatura y tiempo de almacenamiento. Por lo tanto, el almacenamiento de la salchicha a temperatura óptima de refrigeración (5°C) favorece una etapa de adaptación prolongada y el control sobre el patógeno. Además, debe evitarse el abuso de la temperatura (10 – 25 °C) para el mantenimiento de estos alimentos y extender la vida de anaquel del producto con el fin de minimizar el crecimiento potencial de *L. monocytogenes* y el riesgo de la enfermedad.

Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por la beca de la Convocatoria del Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación PROFAPI2014/043 de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

Referencias

1. Desai A.N., Anyoha A., Madoff L.C., Lassmann B. (2019). Changing epidemiology of *Listeria monocytogenes* outbreaks, sporadic cases, and recalls globally: A review of ProMED reports from 1996-2018. *Int. J. Infect. Dis.* **84**:48-53.
2. Organización Mundial de la Salud .(2021). Listeriosis. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/listeriosis>.
3. Byelashov O., Simpson C., Geornaras I., Kendall P., Scanga J., Sofos J. (2008). Evaluation of changes in *Listeria monocytogenes* populations on Frankfurters at different stages from manufacturing to consumption. *J. Food Sci.* **73**(9):430-437.
4. Jiménez-Edeza M., Castillo-Burgos M., Germán-Báez L., Castañeda-Ruelas G.M. (2020). Venta a granel de embutidos: una tendencia de comercialización asociada al riesgo de enfermedades transmitidas por alimentos en Culiacán, México. *Rev. Mex. Cien. Pec.* **11**(3):848-858.
5. Castañeda-Ruelas G., Eslava-Campos C., Castro-del Campo N., León-Félix J., Chaidez-Quiroz C. (2014). Listeriosis en México: importancia clínica y epidemiológica. *Salud Pú. Méx.* **56**(6):654-659.
6. Consejo Mexicano de la Carne (COMECARNE). 2019. Compendio estadístico 2019. Disponible en: <https://comecarne.org/compendio-estadistico-2019/> (consultado el 25 de junio del 2020).
7. Rodríguez-Marval M, Geornaras I, Kendall PA, Scanga JA, Belk KE y Sofos JN. 2009. Microwave Oven Heating for Inactivation of *Listeria monocytogenes* on frankfurters before consumption. *Journal of Food Science*; **74**:453-460.
8. Szczawiński J., Szczawińska M.E., Lobacz A., Tracz M., Jackowska-Tracz A. (2017). Modelling the growth rate of *Listeria monocytogenes* in cooked ham stored at different temperatures. *J. Vet. Res.* **61**:45-51.