



## Calidad microbiológica del chorizo crudo expendido en el Gran Área Metropolitana de Costa Rica<sup>1</sup>

### Microbiological quality of raw sausage commercialized in the Great Metropolitan Area of Costa Rica

Mauricio Redondo-Solano<sup>2</sup>, Valery Cordero-Calderón<sup>2</sup>, Adriana Araya-Morice<sup>3</sup>

- <sup>1</sup> Recepción: 18 de mayo, 2022. Aceptación: 18 de julio, 2022. Este trabajo formó parte del proyecto de tesis de la segunda autora, perteneciente al proyecto de investigación 735-B9-037 “Efecto de las condiciones de fabricación, almacenamiento y preparación sobre la calidad del chorizo fresco criollo producido en Costa Rica”, financiado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica.
- <sup>2</sup> Universidad de Costa Rica, Facultad de Microbiología, Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET) y Laboratorio de Investigación y Entrenamiento en Microbiología de Alimentos (LIMA). Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, 11501-2060, San José, Costa Rica. mauricio.redondosolano@ucr.ac.cr (<https://orcid.org/0000-0003-4047-6014>); valery.cordero@ucr.ac.cr (<https://orcid.org/0000-0002-6154-6344>).
- <sup>3</sup> Universidad de Costa Rica, Escuela de Tecnología de Alimentos. Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, 11-501-2060 San José, Costa Rica. adriana.araya\_m@ucr.ac.cr (autora para correspondencia, <https://orcid.org/0000-0002-7813-0521>).

### Resumen

**Introducción.** En Latinoamérica, los reportes sobre la calidad microbiológica del chorizo crudo son limitados, sin embargo, es un producto de amplio consumo y de tradición. **Objetivo.** Conocer la estabilidad microbiológica del chorizo crudo en el Gran Área Metropolitana (GAM) de Costa Rica. **Materiales y métodos.** Entre enero y agosto de 2019, se realizaron recuentos de indicadores de vida útil y de contaminación, así como la detección de tres patógenos (*Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* y *Clostridium perfringens*) en cincuenta muestras de chorizo crudo obtenidas de carnicerías del Gran Área Metropolitana de Costa Rica. **Resultados.** De las cincuenta muestras analizadas se encontró que solo una era consumible, según los parámetros generales de recuento bacteriano (recuento total aerobio mesófilo [TAM], hongos y levaduras [HYL] y bacterias ácido-lácticas [BAL]) y que la principal causa de deterioro del producto incluye una combinación de BAL y HYL. Además, los recuentos de coliformes totales variaron entre  $10^5$  y  $10^6$  UFC/g. Desde el punto de vista de inocuidad, se aisló *Salmonella* spp. en el 16 % de las muestras, *Listeria monocytogenes* en el 10 % y *Clostridium perfringens* se encontró en una única muestra con un recuento de  $5,00 \times 10^1$  UFC/g. **Conclusión.** Productos sin procesamiento térmico como el chorizo crudo expendido en el GAM de Costa Rica, son productos muy susceptibles al deterioro, que presentan altos niveles de contaminación y que podrían comportarse como vehículo de patógenos; por ello, se recomienda mejorar las prácticas de manufactura para prolongar la vida útil y garantizar la seguridad del consumidor.

**Palabras clave:** productos cárnicos, chorizo crudo, microorganismos patógenos, microbiología.



## Abstract

**Introduction.** In Latin America, reports on the microbiological quality of raw chorizo, or raw pork sausage, are limited, however, it is a widely consumed and traditional product. **Objective.** To determine the microbiological stability of the raw sausage in the Great Metropolitan Area (GAM) of Costa Rica. **Materials and methods.** Between January and August 2019, microbial shelf-life counts, and contamination indicators were carried out, as well as the detection of three pathogens (*Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, and *Clostridium perfringens*) in fifty samples of raw chorizo obtained from butcher shops in the Great Metropolitan Area of Costa Rica. **Results.** Of the fifty samples analyzed, only one was found to be consumable according to the general parameters of bacterial count (total aerobic count [TAM], fungi and yeasts [HYL], and lactic acid bacteria [BAL]). The main cause of spoilage included a combination of BAL and HYL. In addition, the total coliform counts ranged between  $10^5$  and  $10^6$  UFC/g. From a safety standpoint, *Salmonella* spp. was isolated in 16 % of the samples, *Listeria monocytogenes* in 10 % and *Clostridium perfringens* was found in a single sample with a count of  $5.00 \times 10^1$  CFU/g. **Conclusion.** Non-heat treated products, such as raw chorizo sold in the GAM of Costa Rica, are products that are highly susceptible to spoilage, which present high levels of contamination and that could behave as a vehicle for pathogens; therefore, it is recommended to improve manufacturing practices to prolong shelf life and guarantee consumer safety.

**Keywords:** meat products, raw pork sausage, microbial pathogens, microbiology.

## Introducción

El ser humano ha empleado la carne como fuente de alimentación a lo largo de la historia, debido a su alto valor nutricional (Boler & Woerner, 2017); por esta razón, su producción y comercialización es de gran interés para la economía y el sector productivo de la mayoría de los países. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés), declaró que durante el año 2019 se tuvo una producción mundial de 338,8 millones de toneladas de carne, Asia fue el continente con la mayor producción, seguido por Europa, Norteamérica, Suramérica, África, Centroamérica y el Caribe y, por último, Oceanía (Food Agriculture Organization, 2020).

La situación de la producción de carne en Costa Rica no es la excepción, de acuerdo con el Programa Estado de la Nación (2019), en la región Central-Gran Área Metropolitana (GAM) la elaboración de carnes y embutidos representa el 20 % del sector productivo. Con respecto a los hábitos de consumo nacionales, un estudio del 2014 reportó que de la totalidad de las personas encuestadas en el GAM y en San Carlos (Zona Norte del país), el 80 % incluye embutidos dentro de cualquiera de sus comidas diarias, con una frecuencia de dos veces por semana; asimismo, destacó el salchichón, las salchichas, la mortadela, el jamón y el chorizo, como los más consumidos (Araya-Quesada et al., 2014).

La carne y sus derivados, entre ellos los embutidos, constituyen un sustrato ideal para el crecimiento de microorganismos, ya sean patógenos o agentes causantes de deterioro; esto se debe, entre otros factores, a su matriz rica en nutrientes, alto contenido de agua y pH cercano a la neutralidad. Lo anterior, sumado al efecto de actividades químicas y enzimáticas, posicionan a los productos cárnicos como alimentos muy perecederos (Iulietto et al., 2015). Es por esta proclividad hacia el deterioro que la calidad y estabilidad microbiológica de los productos cárnicos cobran relevancia en diferentes niveles.

En cuanto al enfoque económico, es importante controlar los microorganismos responsables de deterioro, ya que como consecuencia de su crecimiento se presentan cambios sensoriales indeseados en el olor, la textura y la

aparición, los cuales repercuten en la aceptabilidad del producto por parte del consumidor (Odeyemi et al., 2020). En otras palabras, el crecimiento microbiano afecta la vida útil del producto, lo que resulta en pérdidas económicas para el productor o cambios indeseables para el consumidor que se presentan una vez adquirido el producto.

De los alimentos destinados al consumo humano, se pierden y/o desperdician cerca de 1300 millones de toneladas anuales, lo cual representa alrededor de un tercio de la producción mundial (Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2012); asimismo, se estima que una cuarta parte de ese desperdicio y/o pérdida tiene como origen un deterioro microbiológico (Zwirzitz et al., 2020).

Desde el punto de vista de salud pública, los productos cárnicos pueden actuar como un vehículo para la transmisión de diferentes patógenos y/o toxinas, por lo que es necesario demostrar que los mismos son inocuos para el consumo (Sofos et al., 2013). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), solo en el 2010 se presentaron seiscientos millones de enfermedades causadas por microorganismos transmitidos por alimentos (ETA) alrededor del mundo, de las cuales 420 000 terminaron en muerte (Zwirzitz et al., 2020). Se han asociado diferentes tipos de embutidos con la presencia de varios patógenos, entre ellos: *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens* (Ed-Dra et al., 2017; Holck et al., 2017). Además del problema sanitario, la situación anterior también supone afectaciones económicas para las instituciones públicas y la población en general, al considerar los gastos hospitalarios y tratamientos requeridos (Rodríguez et al., 2015).

Dentro de los productos cárnicos de mayor consumo en Costa Rica se encuentra el chorizo crudo o “chorizo criollo”; este se caracteriza por su carácter artesanal o semiartesanal, ya que es elaborado a nivel de local comercial por el propio carnicero. Este producto se compone de carne de cerdo picada, nitritos, sal y algunas especias. La información referente a las características químicas y microbiológicas del chorizo crudo es escasa tanto en Costa Rica como en otros países de la región, donde este alimento es también popular, por ejemplo en Colombia (Tirado et al., 2015), México (González-Tenorio et al., 2013) y Perú (Ramos et al., 2014).

El objetivo de este estudio fue conocer la estabilidad microbiológica del chorizo crudo en el GAM de Costa Rica. La información recolectada permitirá definir la estabilidad y el riesgo asociado con un producto de alto consumo en el país.

## Materiales y métodos

### Muestreo

Se recolectaron cincuenta muestras de chorizo crudo, durante el período de enero a agosto del 2019, en diferentes puntos de venta distribuidos en el GAM de Costa Rica, entre ellos: carnicerías, supermercados y ferias del agricultor. Las muestras se transportaron refrigeradas (en hieleras) hasta el Laboratorio de Investigación y Entrenamiento en Microbiología de Alimentos (LIMA) de la Universidad de Costa Rica y se almacenaron a  $4 \pm 1$  °C, por no más de 24 h, para su posterior procesamiento.

### Recuentos microbiológicos

De cada una de las cincuenta muestras de chorizo crudo se pesaron 10 g y se homogeneizaron en 90 mL de agua peptonada estéril al 0,1 % (APE; Basingstoke, UK). De cada suspensión, se realizaron cinco diluciones decimales en APE al 0,1 % y se sembraron 100 µL de cada dilución por duplicado, en los medios adecuados para cada recuento.

Los medios se incubaron de acuerdo con las especificaciones de tiempo, temperatura y atmósfera de crecimiento correspondientes para cada análisis: se utilizó agar estándar + cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC; Basingstoke, UK) a 37 °C durante 48 h para el recuento de microorganismos totales aerobios mesófilos (TAM); agar de Man, Rogosa y Sharpe (MRS; Basingstoke, UK) a temperatura ambiente (TA) durante 48 h bajo una atmósfera capnófila para las bacterias ácido lácticas (BAL); agar papa dextrosa (APD; Basingstoke, UK) a TA durante 3-5 d para el recuento de hongos y levaduras (MYL); y agar bilis rojo violeta (ABRV; Basingstoke, UK) a 35 °C durante 48 h y a 44,5 °C durante 24 h para los coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF), respectivamente.

Las cajas de ABRV fueron recubiertas con una sobrecapa de medio fundido para evitar el sobrecrecimiento de colonias esparcidas.

### Microorganismos patógenos

Para cada una de las muestras se realizó una suspensión de 10 g del chorizo en los caldos de enriquecimiento adecuados para cada patógeno con su correspondiente homogeneización.

Para la identificación de *Listeria monocytogenes* se realizó un enriquecimiento inicial en 90 mL de caldo de Listeria (Basingstoke, UK) a 35 °C durante 48 h, luego un pasaje de 100 µL del enriquecimiento a 10 mL de caldo Fraser (Basingstoke, UK) con una incubación a 35 °C durante 48 h; se aislaron colonias sugestivas a partir del rayado en placas de agar Oxford modificado (MOX; Basingstoke, UK), luego de una incubación a 35 °C durante 48 h. Para la comprobación de las mismas, se realizó una tinción de Gram, se aplicó la prueba de luz de Henry y se realizó una prueba en caldos de fermentación, caldo púrpura de bromocresol (CPBC; Basingstoke, UK) con ramnosa y CPBC con xilosa, incubados a 35 °C durante 48 h (Trimoulinard et al., 2017). Por último, se confirmaron los aislamientos sospechosos mediante el software automatizado de identificación microbiana.

En el caso de *Salmonella* spp. se utilizaron 90 mL de agua peptonada bufferizada para el pre-enriquecimiento (incubado a 35 °C durante 24 h). Se realizó el enriquecimiento mediante dos pasajes a medio líquido, para ello, se inoculó 1 mL y 0,1 mL del pre-enriquecimiento en 10 mL de caldo tetrionato y 10 mL de caldo Rappaport (Basingstoke, UK), respectivamente (ambos se incubaron a 42 °C durante 24 h). Los caldos enriquecidos se rayaron en placas de agar xilosa, lisina, desoxicolato (XLD; Basingstoke, UK), agar sulfito de bismuto (Basingstoke, UK) y agar Hektoen (Basingstoke, UK), luego se incubaron a 35 °C durante 24 h. Sobre las colonias sospechosas, se realizó una tinción de Gram, la prueba de agar hierro-triple-azúcar (TSI) y agar lisina-hierro (LIA), ambos incubados a 35 °C durante 24 h. Por último, se confirmaron los aislamientos sospechosos mediante el software automatizado de identificación microbiana.

*Clostridium perfringens* fue identificado a partir de una suspensión (en 90 mL) y dilución decimal con agua de dilución butterfield bufferizada. El aislamiento de colonias sugestivas se realizó al sembrar por duplicado 100 µL de cada dilución en cajas de agar tripton sulfito cicloserina (TSC; Basingstoke, UK) con yema de huevo, más una sobre capa del mismo agar sin la yema de huevo. Las cajas se incubaron a 35 °C durante 24 h bajo una atmósfera de anaerobiosis. Se comprobaron las colonias sugestivas mediante una tinción de Gram, pruebas de crecimiento en presencia de atmósfera aerobia con agar sangre y crecimiento a 42 °C durante 6 h con *chopped meat glucose broth* (CMGB). Los aislamientos que solo crecieron en anaerobiosis y mostraban replicación luego de 6 h de incubación a 42 °C, se confirmaron mediante el software automatizado de identificación microbiana.

Las cepas aisladas de cada uno de los patógenos se congelaron en tubos Eppendorf con 1 mL de caldo tripticasa soya (CTS) + glicerol y se almacenaron en un congelador a -80 °C dentro de la colección del Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET), Universidad de Costa Rica.

## Análisis de resultados

Los datos de los distintos tipos de recuentos (UFC/g) se analizaron de manera descriptiva por medio del cálculo de promedios, medianas y frecuencias. Para las determinaciones basadas en microorganismos de deterioro, las muestras se clasificaron en tres categorías con base en su perfil microbiológico: almacenables (se pueden mantener en refrigeración por un tiempo adicional; recuentos  $\leq 10^6$  UFC/g), de consumo inmediato (deben ser consumida el mismo día;  $>10^6$ - $10^7$  UFC/g) o descartables (no aptas para el consumo;  $>10^7$ UFC/g) (Gonzalez Hurtado et al., 2014; Montville & Matthews, 2008; Zamora & Zaritzky, 1985).

## Resultados

### Recuentos microbiológicos

Con base en la mediana reportada de los recuentos de indicadores de vida útil (TAM, BAL y MYL) efectuados a las muestras de chorizo crudo expedido en el GAM de Costa Rica (Cuadro 1), se destaca que el 50 % de las muestras presentaron recuentos promedio de TAM menores a  $1,35 \times 10^6$  UFC/g y el 50 % de las muestras revelaron recuentos superiores promedio a  $1,03 \times 10^8$  UFC/g y a  $8,35 \times 10^7$  UFC/g, para BAL y MYL, respectivamente. En el recuento de TAM y BAL se identificaron cinco muestras con resultados incontables ( $>250$  UFC por placa) para todas las diluciones estudiadas, por lo que estas muestras no se consideraron en el valor promedio.

**Cuadro 1.** Recuentos de indicadores de vida útil y categoría de estabilidad microbiológica (UFC/g), en chorizos crudos expedidos en el Gran Área Metropolitana de Costa Rica (n=50) de enero a agosto 2019, clasificados según su estabilidad microbiológica. Laboratorio de Investigación y Entrenamiento en Microbiología de Alimentos (LIMA), Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

**Table 1.** Counts of shelf-life indicators (CFU/g) and microbiological stability category on raw sausages commercialized in the Great Metropolitan Area of Costa Rica (n=50), from January to August 2019, classified according their microbiological stability. Laboratorio de Investigación y Entrenamiento en Microbiología de Alimentos (LIMA), Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

	TAM (UFC/g)	BAL (UFC/g)	HYL (UFC/g)
Almacenables ( $\bar{x}$ )	$3,94 \times 10^5$	$4,81 \times 10^5$	$5,32 \times 10^5$
De consumo inmediato ( $\bar{x}$ )	$4,38 \times 10^6$	$7,47 \times 10^6$	$4,57 \times 10^6$
Descartable ( $\bar{x}$ )	$1,47 \times 10^7$	$5,26 \times 10^8$	$2,94 \times 10^8$
Promedio	$3,38 \times 10^6$	$4,33 \times 10^8$	$2,36 \times 10^8$
Mediana	$1,35 \times 10^6$	$1,03 \times 10^8$	$8,35 \times 10^7$
Incontables	5	5	0

TAM: recuento total aerobio mesófilo; BAL: recuento de bacterias ácido lácticas; HYL: recuento de hongos y levaduras. / TAM: total aerobic mesophilic count; BAL: lactic acid bacteria count; HYL: fungi and yeast count.

Cuando se consideró la cantidad de chorizos crudos por indicador de contaminación y clasificación de la estabilidad microbiológica, se observó que el 96 % de las muestras se clasificaron como descartables por al menos uno de los tres indicadores (Cuadro 2). Para los indicadores de forma separada, el recuento de BAL fue el que presentó la mayor cantidad de muestras descartables, seguido por los recuentos de HYL. Si se analiza solo el indicador de TAM, el 84 % de las muestras resultaron aptas para ser consumidas.

**Cuadro 2.** Cantidad de muestras y porcentaje de chorizos crudos expendidos en el Gran Área Metropolitana de Costa Rica de enero a agosto 2019, clasificados según estabilidad microbiológica. Laboratorio de Investigación y Entrenamiento en Microbiología de Alimentos (LIMA), Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

**Table 2.** Number of samples and percentage of raw sausages commercialized in the Great Metropolitan Area of Costa Rica from January to August 2019, classified according their microbiological stability. Laboratorio de Investigación y Entrenamiento en Microbiología de Alimentos (LIMA), Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

	TAM (%)	BAL (%)	HYL (%)	Combinación de los tres criterios (%)
Almacenables	19 (38)	5 (10)	3 (6)	0 (0)
Consumir inmediato	23 (46)	3 (6)	7 (14)	2 (4)
Descartar	8 (16)	42 (84)	40 (80)	48 (96)
Total	50 (100)	50 (100)	50 (100)	50 (100)

TAM: recuento total aerobio mesófilo; BAL: recuento de bacterias ácido lácticas; HYL: recuento de hongos y levaduras. / TAM: total aerobic mesophilic count; BAL: lactic acid bacteria count; HYL: fungi and yeast count.

Al evaluar las combinaciones de los tres indicadores, se obtuvo que el 54 % tuvieron recuentos mayores a  $10^7$  UFC/g para BAL y MYL en conjunto, y el 17 % y 12 % para alguno de los dos indicadores de forma separada, respectivamente. Por la combinación de los tres criterios se tuvo que el 17 % de las muestras totales fueron clasificadas como descartables, es decir, que ocho muestras presentaron valores superiores a  $10^7$  UFC/g para TAM, BAL y MYL, de forma simultánea.

Con respecto al análisis de indicadores de contaminación, la cuantificación de la población final de coliformes fecales en las muestras evidenció que el 82 % de las mismas no eran consumibles. Se determinó una población final promedio de coliformes fecales de  $2,24 \times 10^4$  UFC/g y una mediana de  $2,80 \times 10^3$  UFC/g.

El análisis combinado de los indicadores de vida útil y coliformes permitió definir que, de la totalidad de las muestras analizadas, solo una fuera apta para el consumo humano. De las dos muestras que eran consumibles de acuerdo con los indicadores de vida útil, una de ellas se debió descartar por una cantidad elevada de coliformes fecales  $>100$  UFC/g.

Los resultados para el recuento de coliformes totales se presentan en el Cuadro 3. En este caso las muestras se agruparon en varias categorías según la carga microbiana presente. Los datos recolectados estuvieron acordes con los valores obtenidos en los indicadores de calidad y se evidenció la alta carga microbiana de las muestras. Más de la mitad de las muestras poseían valores por encima de  $1,00 \times 10^5$  UFC/g de coliformes totales. El valor promedio del recuento de CT resultó en  $4,92 \times 10^5$  UFC/g y mostró un 56 % de las muestras con recuentos mayores a los cinco logaritmos.

### Microorganismos patógenos

Con respecto al aislamiento de microorganismos patógenos en chorizos crudos expendidos en el Gran Área Metropolitana de Costa Rica, se evidenció la presencia de *Salmonella* spp. y de *L. monocytogenes* en un 16 % y 10 % de las muestras, respectivamente, además, se dio la presencia concomitante de ambos patógenos en una única muestra. Por su parte, *C. perfringens* se aisló solo de una muestra, la cual presentó un recuento de  $5,00 \times 10^1$  UFC/g.

**Cuadro 3.** Distribución de frecuencias, promedios y medianas del recuento de coliformes totales (UFC/g) en chorizos crudos expendidos en el Gran Área Metropolitana de Costa Rica entre enero y agosto 2019. Laboratorio de Investigación y Entrenamiento en Microbiología de Alimentos (LIMA), Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

**Table 3.** Frequency, average and median distribution of total coliforms (CFU/g) on raw sausages commercialized in the Great Metropolitan Area of Costa Rica from January to August 2019. Laboratorio de Investigación y Entrenamiento en Microbiología de Alimentos (LIMA), Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

Límite inferior (UFC/g)	Límite Superior (UFC/g)	Frecuencia (%)	Promedio (UFC/g)	Mediana (UFC/g)
1,00x10 <sup>2</sup>	1,00x10 <sup>3</sup>	2 (4)	4,50x10 <sup>2</sup>	4,50x10 <sup>2</sup>
1,00x10 <sup>3</sup>	1,00x10 <sup>4</sup>	10 (20)	4,87x10 <sup>3</sup>	4,13x10 <sup>3</sup>
1,00x10 <sup>4</sup>	1,00x10 <sup>5</sup>	10 (20)	4,67x10 <sup>4</sup>	4,75x10 <sup>4</sup>
1,00x10 <sup>5</sup>	1,00x10 <sup>6</sup>	22 (44)	3,64x10 <sup>5</sup>	3,55x10 <sup>5</sup>
1,00x10 <sup>6</sup>	1,00x10 <sup>7</sup>	6 (12)	2,68x10 <sup>6</sup>	2,50x10 <sup>6</sup>
		50 (100)	4,92x10 <sup>5</sup>	1,26x10 <sup>5</sup>

## Discusión

En el análisis microbiológico preliminar de los indicadores de vida útil del chorizo crudo, una gran cantidad de las muestras podrían presentar algún compromiso en sus propiedades sensoriales, pues se conoce que a partir de recuentos mayores al orden de 10<sup>7</sup> UFC/g (para cualquier tipo de indicador) se empiezan a presentar alteraciones y signos de deterioro visible (González Hurtado et al., 2014). Para las muestras con recuentos entre 6 y 7 log UFC/g se utilizó la clasificación de “consumibles de inmediato”, lo que significa que, por la cinética del crecimiento microbiano, en breve, estas muestras alcanzarán niveles compatibles con deterioro (Montville & Matthews, 2008).

Con base en los recuentos de TAM, el promedio de las muestras se clasificaron dentro de “consumibles de inmediato”, al momento del análisis el 96 % de las muestras se consideraron “descartables” por al menos uno de los tres indicadores y, en su mayoría, el deterioro se debió a una causa que combinó BAL y MYL (54 %). Estos resultados reflejan que las estrategias para retrasar el deterioro del chorizo crudo se deben enfocar en el control de bacterias ácido lácticas y mohos y levaduras, por lo que resulta de interés para la industria la aplicación de tecnologías de control de este grupo de microorganismos, como lo son el uso de bacteriocinas (Kalschne et al., 2014), ácidos orgánicos o aceites esenciales (Martín-Sánchez et al., 2011).

En México, se reportaron poblaciones finales de BAL y TAM entre 7 y 9 Log UFC/g en muestras de chorizo (González-Tenorio et al., 2013); sin embargo, a diferencia de los resultados obtenidos en este estudio, se reportaron un predominio de BAL y TAM, así como recuentos de MYL más bajos que fueron desde los 4 hasta los 7 Log UFC/g. Esto sugiere que, en comparación con el chorizo mexicano, el chorizo crudo costarricense estudiado presentó condiciones higiénicas y de manipulación más deficientes, así como mayor contaminación post-proceso.

La contaminación observada en los chorizos costarricenses podría relacionarse con las condiciones tropicales y de alta humedad del país, donde la carga aérea de hongos puede ser mayor (Montville & Matthews, 2008). La contaminación de productos cárnicos con hongos es riesgosa, ya que estos microorganismos pueden acumular metabolitos tóxicos en los alimentos, así como causar cambios indeseables en la coloración (Martín-Sánchez et al., 2011).

Los coliformes totales se emplearon como indicador de condiciones higiénicas presentes durante la manipulación y procesamiento de los alimentos (Calvo-Arrieta et al., 2021) y el estándar para determinar el número aceptable de coliformes en alimentos varía según el tipo de producto, la edad de los consumidores y las agencias

regulatorias. Aunque el Reglamento Técnico Centroamericano no establece criterios específicos para coliformes totales, de manera general, y de acuerdo con lo establecido por la *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF), se recomiendan valores por debajo de  $10^2$  UFC/g como aceptables en alimentos (Al Mamun et al., 2013). En el presente estudio, un 96 % de las muestras no cumplían con el estándar establecido por ICMSF. La detección de un 56 % de muestras con recuentos superiores a  $4,92 \times 10^5$  UFC/g (Cuadro 3), evidenció altos niveles de contaminación, aun cuando al tratarse de un producto crudo cárnico sea normal tener una carga alta de microorganismos (Jay et al., 2005).

El uso de los coliformes totales como indicador radicó en que los géneros pertenecientes a este grupo pueden estar presentes tanto en materia fecal como en el ambiente (Soares et al., 2013), de manera que su presencia, en concentraciones elevadas, se puede asociar con malas prácticas de manipulación o condiciones de limpieza y desinfección durante la producción del chorizo crudo. Esto implica que es necesario aplicar medidas correctivas en los establecimientos, como por ejemplo: mejorar las buenas prácticas de manufactura, de almacenaje y de transporte, prevenir las fuentes de contaminación cruzada y asegurar la calidad de las materias primas utilizadas (Al Mamun et al., 2013).

En este estudio experimental se encontró que la mayor parte de las muestras (82 %) no se consideran aptas para el consumo, ya que presentaron recuentos de coliformes fecales  $>100$  UFC/g y esto correlaciona con una alta probabilidad de encontrar microorganismos patógenos entéricos (Kassem et al., 2020). No obstante, se debió considerar que algunos de los resultados podrían ser falsos positivos, debidos a la presencia de enterobacterias con origen ambiental (Mendonça Soares et al., 2021).

La realización de comparaciones con respecto a los coliformes fecales es complicado, ya que la mayoría de los análisis fueron realizados mediante la técnica de número más probable (TNMP) y esta, a diferencia del recuento en placa de Petri, incluye fases de enriquecimiento, de manera que no sería adecuado establecer tendencias a partir de los resultados observados antes de analizar la mayor cantidad de muestras y confirmar la presencia de *E. coli*.

En Costa Rica, desde el punto de vista de la inocuidad, el chorizo crudo podría suponer un peligro para la salud pública al comportarse como vehículo de patógenos, debido a que se demostró la presencia de *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes* en el 16 % y 10 % de las muestras analizadas, respectivamente. De manera similar, dos estudios en Brasil determinaron una positividad de *Salmonella* spp. del 24,40 % y del 14,50 % en embutidos crudos (Mürmann et al., 2009; Spricigo et al., 2008); mientras que en México se reportaron porcentajes de aislamientos mucho más elevados (32 %) en chorizo (Becerril Sánchez et al., 2019).

Los resultados reportados en este estudio, confirman la importancia de *Salmonella* spp como contaminante de embutidos crudos. Esta bacteria patógena es un contaminante usual de alimentos de origen animal, debido a que cuenta con numerosos reservorios, extensos períodos de excreción en materia fecal (incluso después de finalizada la sintomatología) y una supervivencia prolongada en el ambiente, lo que incrementó de esta forma las posibilidades de infección y de desarrollo de la enfermedad (Mendonça-Soares et al., 2021).

En cuanto a *L. monocytogenes*, los resultados obtenidos son comparables con los reportados en Turquía (12,00 %) (Kilic, 2009), pero mucho menores a los determinados en Brasil (42,00 %) (Miyasaki et al., 2009) e Italia (38,90 %) (De Cesare et al., 2007). Es probable que este hallazgo se deba a que *L. monocytogenes* es un patógeno cuya presencia es importante en alimentos listos para el consumo, como el caso de los embutidos fermentados (Pažin et al., 2018). Además, las bacterias del género *Listeria* spp. se consideran malos competidores y es posible que se vean inhibidas en el chorizo crudo que posee altos niveles de contaminación microbiana (Heir et al., 2018).

Un estudio reciente de muestras (32) de chorizo crudo en Costa Rica determinó un nivel de contaminación del 65,60 % con *Listeria innocua*, pero no se evidenció presencia de *L. monocytogenes* (Calvo-Arrieta et al., 2021); los autores sugirieron que este es un hallazgo normal, debido a que *L. monocytogenes* no es buena competidora y puede ser difícil su detección en muestras con alta carga microbiana. Por su parte, *Clostridium perfringens* no parece representar un peligro para el consumidor, puesto que aun cuando fue aislado de una muestra, en este estudio el recuento evidenciado fue menor que  $10^6$ - $10^7$  UFC/g, que corresponde a la dosis infecciosa (Sofos et al.,

2013). En contraposición, en un estudio nacional de 1999, se demostró la presencia de este patógeno en el 92 % (23/25) de las muestras analizadas, de igual forma con recuentos por debajo de la dosis infectante (Morera et al., 1999); no obstante, se debe considerar que el análisis en dicho estudio se realizó mediante TNMP, que favorece la recuperación de microorganismos al emplear una fase de enriquecimiento. Además, la prevalencia parece ser menor a la determinada en Marruecos (77,60 %) (Ed-Dra et al., 2017) y Argelia (25,20 %) (Hachemi et al., 2019).

El alto grado de contaminación que se encontró en el chorizo, se podría atribuir a la contaminación cruzada y la cocción inadecuada, como dos de los factores que podrían incidir con mayor impacto en el riesgo para el consumidor. Se destaca la importancia de direccionar esfuerzos en la capacitación de los productores en temas relacionados con el aseguramiento de la inocuidad de los alimentos y la concientización de los consumidores en la manipulación, cocción y preparación de este tipo de productos cárnicos procesados crudos.

La presencia de *Salmonella* spp. en 25 g de este tipo de alimento está prohibida según el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.54.60:17, regulación en la que se basa Costa Rica según el Decreto 41420-COMEX-S-MEIC de 2018 (Presidencia de la República et al., 2018), mientras que *L. monocytogenes* y *C. perfringens*, solo están normados a nivel de productos cárnicos cocidos. La reglamentación vigente debe incluir, como mínimo, la regulación de *L. monocytogenes* para los embutidos crudos, ya que las cantidades detectadas sugieren valores considerables de dicho patógeno. La sugerencia de actualizar la normativa que gradúa la calidad del chorizo también ha sido realizada en México, esto a partir de un estudio similar (González-Tenorio et al., 2013).

## Conclusión

A nivel preliminar, el chorizo crudo que se vende en el Área Metropolitana de Costa Rica presentó altos niveles de contaminación relacionadas a hongos y levaduras [HYL] y bacterias ácido-lácticas [BAL]), así como los altos recuentos de coliformes (totales y fecales), lo que demostró deficiencias en las prácticas de manufactura, calidad de la materia prima y manipulación del producto cárnico. Además, la presencia de microorganismos patógenos en las muestras significó una evidencia de calidad y estabilidad microbiológicas insuficientes para asegurar la inocuidad del producto, lo que permite resaltar la necesidad de reforzar la capacitación de los productores de este tipo de productos y la concientización del consumidor a la hora de prepararlos en sus casas.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica [Proyecto B9 037] por el financiamiento a este proyecto.

## Declaración de conflicto de interés

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

## Referencias

Al Mamun, M., Mahfuzur Rahman, S. M., & Chowdhury Turin, T. (2013). Microbiological quality of selected street food items vended by school-based street food vendors in Dhaka, Bangladesh. *International Journal of Food Microbiology*, 166(3), 413–418. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.08.007>

- Araya-Quesada, Y., Jimenez-Robles, A., Ivankovich-Guillén, C., & García-Barquero, M. (2014). Hábitos de consumo de embutidos en el cantón de San Carlos y el área metropolitana de Costa Rica. *Tecnología en Marcha*, 27(4), 113–124. <https://doi.org/10.18845/tm.v27i4.2091>
- Becerril Sánchez, A. L., Dublán García, O., Domínguez-López, A., Arizmendi Cotero, D., & Quintero-Salazar, B. (2019). La calidad sanitaria del chorizo rojo tradicional que se comercializa en la ciudad de Toluca, Estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 10(1), 172–185. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i1.4344>
- Boler, D. D., & Woerner, D. R. (2017). What is meat? A perspective from the American Meat Science Association. *Animal Frontiers*, 7(4), 8–11. <https://doi.org/10.2527/af.2017.0436>
- Calvo-Arrieta, K., Matamoros-Montoya, K., Arias-Echandi, M. L., Huete-Soto, A., & Redondo-Solano, M. (2021). Presence of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat products sold at retail stores in Costa Rica and analysis of contributing factors. *Journal of Food Protection*, 84(10), 1729–1740. <https://doi.org/10.4315/JFP-21-020>
- De Cesare, A., Mioni, R., & Manfreda, G. (2007). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in fresh and fermented Italian sausages and ribotyping of contaminating strains. *International Journal of Food Microbiology*, 120(1–2), 124–130. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.009>
- Ed-Dra, A., Rhazi Filali, F., El Allaoui, A., & Sfindla, A. (2017). Occurrence of *Clostridium perfringens* in sausages sold in Meknes city, Morocco. *Open Veterinary Journal*, 7(4), 323–327. <https://doi.org/10.4314/ovj.v7i4.6>
- Food Agriculture Organization. (2020, April). *Meat market review. Overview of global meat market developments in 2019*. <https://www.fao.org/3/ca8819en/CA8819EN.pdf>
- González-Tenorio, R., Totosaus, A., Caro, I., & Mateo, J. (2013). Caracterización de propiedades químicas y fisicoquímicas de chorizos comercializados en la zona centro de México. *Información Tecnológica*, 24(2), 3–14.
- González Hurtado, M. I., Mesa Gaviria, C. A., & Quintero Cardona, O. A. (2014). Estimación de la vida útil de almacenamiento de carne de res y de cerdo con diferente contenido graso. *Vitae*, 21(3), 201–210. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/vitae/article/view/16668>
- Hachemi, A., Zenia, S., Denia, M. F., Guessoum, M., Hachemi, M. M., & Ait-Oudhia, K. (2019). Epidemiological study of sausage in Algeria: Prevalence, quality assessment, and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates and the risk factors associated with consumer habits affecting foodborne poisoning. *Veterinary World*, 12(8), 1240–1250. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1240-1250>
- Heir, E., Møretrø, T., Simensen, A., & Langsrud, S. (2018). *Listeria monocytogenes* strains show large variations in competitive growth in mixed culture biofilms and suspensions with bacteria from food processing environments. *International Journal of Food Microbiology*, 275, 46–55. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.03.026>
- Holck, A., Axelsson, L., McLeod, A., Rode, T. M., & Heir, E. (2017). Health and safety considerations of fermented sausages. *Journal of Food Quality*, 2017, Article 9753894. <https://doi.org/10.1155/2017/9753894>
- Iulietto, M. F., Sechi, P., Borgogni, E., & Cenci-Goga, B. T. (2015). Meat Spoilage: A Critical Review of a Neglected Alteration Due to Ropy Slime Producing Bacteria. *Italian Journal of Animal Science*, 14(3), Article e4011. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.4011>
- Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). *Modern food microbiology* (7<sup>th</sup> ed.). Springer.

- Kalschne, D. L., Geitenes, S., Veit, M. R., Sarmiento, C. M. P., & Colla, E. (2014). Growth inhibition of lactic acid bacteria in ham by nisin: A model approach. *Meat Science*, 98(4), 744–752. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.07.002>
- Kassem, I. I., Nasser, N. A., & Salibi, J. (2020). Prevalence and loads of fecal pollution indicators and the antibiotic resistance phenotypes of *Escherichia coli* in raw minced beef in Lebanon. *Foods*, 9(11), Article 1543. <https://doi.org/10.3390/foods9111543>
- Kilic, B. (2009). Current trends in traditional Turkish meat products and cuisine. *LWT - Food Science and Technology*, 42(10), 1581–1589. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.05.016>
- Martín-Sánchez, A. M., Chaves-López, C., Sendra, E., Sayas, E., Fenández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. Á. (2011). Lipolysis, proteolysis and sensory characteristics of a Spanish fermented dry-cured meat product (salchichón) with oregano essential oil used as surface mold inhibitor. *Meat Science*, 89(1), 35–44. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.03.018>
- Mendonça Soares, V., Beltrame Padilha, M., de Moraes Guerra, M. E., Alves Schneider, F., Gasparetto, R., Rodrigues dos Santos, E. A., Ereno Tadielo, L., Sperotto Brum, M. C., Kist Traesel, C., & Gonçalves Pereira, J. (2021). Identification of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, and indicator microorganisms in commercialized raw meats and fresh sausages from Uruguaiana, Rio Grande do Sul, Brazil. *Ciência Rural*, 51(6), Article e20200569. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200569>
- Miyasaki, K. N., Chiarini, E., de Souza Sant’Ana, A., Destro, M. T., Landgraf, M., & de Melo Franco, B. D. G. (2009). High prevalence, low counts and uncommon serotypes of *Listeria monocytogenes* in linguíça, a Brazilian fresh pork sausage. *Meat Science*, 83(3), 523–527. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.037>
- Montville, T., & Matthews, K. (2008). *Food microbiology: An introduction* (2<sup>nd</sup> ed). ASM Press.
- Morera, J., Rodríguez, E., & Gamboa, M. M. (1999). Determinación de *Clostridium perfringens* en embutidos de carne de cerdo del Área Metropolitana de Costa Rica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 49(3), 279–282. <https://www.alanrevista.org/ediciones/1999/3/art-14/>
- Mürmann, L., dos Santos, M. C., & Cardoso, M. (2009). Prevalence, genetic characterization and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from fresh pork sausages in Porto Alegre, Brazil. *Food Control*, 20(3), 191–195. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.04.007>
- Odeyemi, O. A., Alegbeleye, O. O., Strateva, M., & Stratev, D. (2020). Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in foods of animal origin. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(2), 311–331. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12526>
- Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2012). *Pérdidas y desperdicio de alimentos en el mundo – Alcance, causas y prevención*. [fao.org/3/i2697s/i2697s.pdf](http://fao.org/3/i2697s/i2697s.pdf)
- Pažin, V., Jankuloski, D., Kozaciński, L., Dobranić, V., Njari, B., Cvrtila, Ž., Lorenzo, J. M., & Zdolec, N. (2018). Tracing of *Listeria monocytogenes* contamination routes in fermented sausage production chain by pulsed-field gel electrophoresis typing. *Foods*, 7(12), Article 198. <https://doi.org/10.3390/foods7120198>
- Presidencia de la República, Ministerio de Comercio Exterior y de Salud, Ministerio de Agricultura y Ganadería & Ministerio de Economía Industria y Comercio. (2018 diciembre, 21). *Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:17 Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de los alimentos*. La Gaceta. [https://www.imprentanacional.go.cr/pub/2018/12/21/ALCA222\\_21\\_12\\_2018.pdf](https://www.imprentanacional.go.cr/pub/2018/12/21/ALCA222_21_12_2018.pdf)
- Programa Estado de la Nación. (2019). *Informe Estado de la Nación 2019*. <https://bit.ly/3VRTtI4>

- Ramos, D., San Martín, V., Rebatta, M., Arbaiza, T., Salvá, B., Caro, I., & Mateo, J. (2014). Características fisicoquímicas de la salchicha de cerdo del departamento de Tumbes, Perú. *Salud y Tecnología Veterinaria*, 2(2), 120–128. <https://doi.org/10.20453/stv.v2i2.2249>
- Rodríguez, H., Barreto, G., Sadrés, M., Bertot, J., Martínez, S., & Guevara, G. (2015). Las enfermedades transmitidas por alimentos, un problema sanitario que hereda e incrementa el nuevo milenio. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 16(8), 1–27.
- Soares, K., García-Díez, J., Esteves, A., Oliveira, I., & Saraiva, C. (2013). Evaluation of food safety training on hygienic conditions in food establishments. *Food Control*, 34(2), 613–618. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.006>
- Sofos, J. N., Flick, G., Nychas, G. -J., O'Bryan, C. A., Ricke, S. C., & Crandall, P. G. (2013). Meat, poultry, and seafood. In M. P. Doyle, & R. L. Buchanan (Eds.), *Food microbiology: fundamentals and frontiers* (4<sup>th</sup> ed., Chapter 6, pp. 109–167). ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555818463.ch6>
- Spricigo, D. A., Matsumoto, S. R., Espíndola, M. L., & Ferraz, S. M. (2008). Prevalência, quantificação e resistência a antimicrobianos de sorovares de *Salmonella* isolados de lingüiça frescal suína. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28(4), 779–785. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000400003>
- Tirado, D., Acevedo, D., & Montero, P. (2015). Calidad microbiológica, fisicoquímica, determinación de nitritos y textura de chorizos comercializados en Cartagena (Colombia). *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*, 18(1), 189–195. <https://doi.org/10.31910/rudca.v18.n1.2015.469>
- Trimoulinard, A., Beral, M., Henry, I., Atiana, L., Porphyre, V., Tessier, C., Leclercq, A., & Cardinale, E. (2017). Contamination by *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. and *Listeria* spp. of most popular chicken- and pork-sausages sold in Reunion Island. *International Journal of Food Microbiology*, 250, 68–74. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.03.017>
- Zamora, M. C., & Zaritzky, N. E. (1985). Modeling of microbial growth in refrigerated packaged beef. *Journal of Food Science*, 50(4), 1003–1006. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1985.tb12998.x>
- Zwirzitz, B., Wetzels, S. U., Dixon, E. D., Stessl, B., Zaiser, A., Rabanser, I., Thalguter, S., Pinior, B., Roch, F. -F., Strachan, C., Zanghellini, J., Dzieciol, M., Wagner, M., & Selberherr, E. (2020). The sources and transmission routes of microbial populations throughout a meat processing facility. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 6(1), 26–31. <https://doi.org/10.1038/s41522-020-0136-z>