CARACTERIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD HISTAMINOGÉNICA DE ESPECIES BACTERIANAS PROVENIENTES DE JUREL

(Trachurus symmetricus)



Alina M. Bermejo Pérez

Tesis presentada a la
ESCUELA DE GRADUADOS DE LA UNIVERSIDAD DE CONCEPCION

Para optar al grado de

MAGISTER EN CIENCIAS CON MENCION MICROBIOLOGIA

CONCEPCION-CHILE

2003

RESUMEN

La histamina del pescado, denominada también escombrotoxina, es la causante de la mayoría de las intoxicaciones alimenticias por consumo de pescado en descomposición. Esta toxina comienza a formarse en el pescado debido a la acción de bacterias que degradan la histidina, presente en forma libre o formando parte de las proteínas musculares del pescado.

El objetivo general del presente estudio fue determinar la actividad de histaminogénesis y caracterizar la flora bacteriana histaminogénica de jurel, *Trachurus symmetricus*, almacenado a tres temperaturas diferentes, 25, 15 y 5° C.

Se realizaron cultivos de homogenizado de jurel con TSB-H (20 g/L de caldo tripticasa de soya, 2% de histidina) a 25, 15 y 5° C, donde se determinó la velocidad de crecimiento de la comunidad bacteriana midiendo densidad óptica a 620nm, y simultáneamente se determinó la concentración de histamina por HPLC. La velocidad de crecimiento máximo fue de 0.304, 0.2952 y 0.047 h⁻¹, a 25, 15 y 5° C, respectivamente. La producción de histamina de 3.61, 2.65 y 3.05 g/L a 25, 15 y 5° C, respectivamente.

Paralelamente se determinó recuento de bacterias heterótrofas totales en agar tripticasa de soya suplementado con 2 % de histidina (AT-H), bacterias proteolíticas en medio caseinato de calcio y bacterias histaminogénicas en medio Niven a 25, 15 y 5° C, respectivamente. El grupo de las bacterias heterótrofas totales presentó recuentos máximos de 5.0x10⁹, 6.5x10⁹ y 7.3x10⁹ ufc/ mL a 25, 15 y 5° C, respectivamente. La comunidad bacteriana con propiedades proteolíticas alcanzaron recuentos y porcentaje con respecto a las heterótrofas de 5.5x10⁶ (0.11 %), 2.8x10⁷ (0.43 %) y 5.6x10⁶ ufc/ mL (0.07 %), a 25, 15 y 5° C, respectivamente. Las bacterias histaminogénicas alcanzaron recuentos de 1.5x10⁴ (0.0003 %), 8.3x10⁶ (0.13 %) y 7.4x10³ ufc/mL (0.0001 %) a 25, 15 y 5° C, respectivamente.

Se seleccionaron para su identificación colonias proteolíticas e histaminogénicas aisladas de cada una de las temperaturas de ensayo utilizando el sistema API; además, se determinó la producción de histamina en cada una de las cepas bacterianas. A 25° C la especie con mayor frecuencia de aislamiento, correspondió a *Proteus vulgaris*

(47.6 %). Desde el medio mantenido a 15° C la mayor frecuencia de aislamiento correspondió a la especie *Aeromonas hydrophila* (53.3 %). En el ensayo a 5° C, la mayor frecuencia de aislamiento correspondió a *P. vulgaris* (37.5 %) y *Pseudomonas putida* (37.5 %). La cepa con mayor capacidad de formación de histamina en el tratamiento a 25° C, fue *P. damselae* (611.19 μg/ Log (ufc/mL)). A 15° C, la cepa bacteriana con mayor producción de histamina correspondió a *A. hydrophila* (829.49 y 656.82 μg/ Log (ufc/mL)). Desde el medio mantenido a 5° C, la mayor capacidad histaminogénica se detectó con *P. vulgaris* (754.97 μg/ Log (ufc/mL)).

Para los ensayos de actividad histaminogénica en músculo de jurel, se mantuvieron ejemplares de jurel a 25, 15 y 5° C. Periódicamente se extrajo una muestra de músculo, se determinó el recuento de bacterias heterótrofas totales cultivables, proteolíticas e histaminogénicas, de la misma manera que en medio líquido. Simultáneamente se determinó histamina en el músculo.

La velocidad de crecimiento máximo fue de 0.3456, 0.3090 y 0.0683 h⁻¹ y los recuentos máximos de heterótrofas fue de 6.5x10⁸, 6.0x10⁷, y 1.7x10⁷ ufc/ 0.1 g pescado a 25, 15 y 5° C, respectivamente.

Por otra parte, se alcanzaron niveles similares de histamina en el músculo a las tres temperaturas ensayadas, pero el tiempo para alcanzar estas concentraciones fue mayor a menor temperatura (51, 85 y 275 horas a 25, 15 y 5° C, respectivamente). Luego la concentración de histamina comenzó a disminuir hasta llegar casi a cero.

La comunidad bacteriana, presente en músculo, con capacidad proteolítica, presentó recuentos 10 veces mayores comparadas con las bacterias proteolíticas en homogenizado, a excepción de los ensayos realizados a 15° C que presentaron valores similares, 8.7x10⁶ (2.12 %), 1.4x10⁵ (0.23 %) y 6.0x10⁵ (0.35 %) ufc/ 0.1g a 25, 15 y 5° C, respectivamente. Los recuentos de bacterias histaminogénicas fueron 300 veces superiores al de heterótrofas en medio homogenizado, a excepción de 15° C, 4.3x10⁵ (0.10 %), 9.2x10⁴ (0.15 %) y 1.0x10⁵ (0.59 %) ufc/ 0.1g a 25, 15 y 5° C, respectivamente. Por lo tanto, el medio de cultivo tuvo una cierta acción restrictiva para este tipo de bacterias.

Posteriormente se aislaron las colonias proteolíticas e histaminogénicas provenientes de ensayos realizados a cada temperatura y se procedió al igual que los aislamientos en homogenizado. En los ejemplares mantenidos a 25° C la mayor frecuencia de aislamiento, correspondió a las especies *P. vulgaris* (64.3 %). Desde los ejemplares mantenidos a 15° C la mayor frecuencia de aislamiento correspondió a las especies *Pseudomonas* sp. (20 %) y *Klebsiella oxytoca* (20 %). En los ensayos a 5° C la mayor frecuencia correspondió a *A. hydrophila* (26.7 %). Cabe destacar que en todas las temperaturas ensayadas se encontró una mayor riqueza de especies en los ejemplares de jurel, comprobando que el caldo restringió el crecimiento de algunas especies.

Las cepas con mayor capacidad para formar histamina en el tratamiento a 25° C, correspondieron, al igual que en los ensayos en caldo, a *P. damselae* (287.23 μg/ Log (ufc/mL)); sin embargo, mostraron una menor capacidad individual para producir histamina. En el tratamiento a 15° C, la cepa que presentó una mayor producción de histamina correspondió a la especie *K. oxytoca* (380.35 μg/ Log (ufc/mL)) que, comparada con las actividades individuales encontrada en las cepas aisladas de caldo, son mucho menores. Desde los ejemplares mantenidos a 5° C, la mayor capacidad histaminogénica correspondió a *Burkholderia cepacia* (448.10 μg/ Log (ufc/mL)) la cual, al igual que en los ensayos anteriores, presentó una producción de histamina mucho menor que las cepas aisladas en el caldo.

Con los resultados obtenidos se puede concluir que existe una comunidad bacteriana distinta a cada una de las temperaturas de almacenaje de los ejemplares de jurel, con velocidad de crecimiento, composición de especies y capacidad histaminogénica característica. Por lo tanto, la formación de histamina no sólo depende de la temperatura a la que se mantiene el pescado, sino que también de la carga bacteriana, las especies que forman esta comunidad y su capacidad individual de histaminogénesis.