

## Vigilancia de histamina en pescado en el período comprendido de 2015 - 2017

### *FISH HISTAMINE SURVEILLANCE IN THE PERIOD FROM 2015 - 2017*

I. HERNÁNDEZ GARCARENA,<sup>1</sup> S. SUAREZ TAMAYO,<sup>1</sup> R. GARCÍA BALUJA,<sup>1</sup> A. M. JORDÁN QUINTÁNS,<sup>1</sup> Y. SÁNCHEZ AZAHARES,<sup>1</sup> M. CARDONA GÁLVEZ,<sup>1</sup> A. VIVAR PEREZ.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología (INHEM), La Habana, Cuba.

<sup>2</sup> Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria (IIIA), La Habana, Cuba.

*Correspondencia:* Iván Hernández Garcarena. Correo-e: ivan@inhem.sld.cu

#### RESUMEN

*Introducción:* Los brotes de histaminosis son pocos conocidos por la población; las diarreas, también son frecuentes en este tipo de intoxicación. La aparición de estos síntomas varía entre algunos minutos y varias horas desde la ingestión, y pueden ser característicos de estas enfermedades transmitidas por los alimentos. *Objetivo:* Estuvo centrado en cuantificar las concentraciones de histamina en los pescados y productos pesqueros llegados al laboratorio utilizando la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). *Material y métodos:* Se realizaron un total de 164 análisis por duplicado utilizando el método propuesto por Gouygou et al. (1987), donde la histamina es extraída con ácido tricloro acético y la fase móvil está compuesta por fosfato monosódico 50 mmol/L + acetonitrilo. *Resultados:* Se presenta los resultados de la vigilancia epidemiológica durante el período de estudio; se presentan las cantidades de productos evaluados por año, el estado físico en que llegaron las muestras al laboratorio, los resultados según tipo de muestra y las especies recibidas en el laboratorio durante el período de estudio. *Conclusiones:* El 7.31 % de las muestras analizadas presentaban valores de histamina por encima del LMR lo que demuestra la importancia de vigilar este metabolito.

**Palabras clave:** Histamina, pescados, Límite Máximo de Residuo (LMR), vigilancia, HPLC.

#### ABSTRACT

*Introduction:* Outbreaks of histaminosis are few known to the population; diarrhea is also common in this type of poisoning. The appearance of these symptoms varies between a few minutes and several hours, since ingestion and may be characteristic of these foodborne diseases. *Objective:* It was focused on quantifying histamine concentrations in fish and fishery products arrived at the laboratory using high performance liquid chromatography (HPLC). *Materials and methods:* A total of 164 duplicate analyzes were performed using the method proposed by Gouygou et al. (1987), where histamine is extracted with trichloric acetic acid and the mobile phase is composed of 50 mmol/L + acetonitrile monosodium phosphate. *Results:* The results of the epidemiological surveillance are presented during the study period; The quantities of products evaluated per year are presented, the physical state in which the samples arrived at the laboratory, the results according to the type of sample and the species received in the laboratory during the study period. *Conclusions:* 7.31 % of the samples analyzed had histamine values above the MRL, which demonstrates the importance of monitoring this metabolite.

**Keywords:** Histamine, fish, Maximum Residue Limit (MRL), surveillance, HPLC.

## INTRODUCCIÓN

Los brotes de histaminosis son pocos conocidos por la población, achacándole sus síntomas a otros males como descomposiciones de estómago o “empachos”. Sin embargo, a altas concentraciones puede causar algunos efectos dañinos tales como hipo e hipertensión arterial, enrojecimiento y edema facial, dolor de cabeza, náuseas, palpitaciones cardíacas, intoxicación renal y en casos más severos hemorragia intracraneal y muerte. Las diarreas, también son frecuentes en este tipo de intoxicación.<sup>(1,2)</sup> La aparición de estos síntomas varía entre algunos minutos y varias horas, no más de tres, desde la ingestión y pueden ser característicos de estas Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETA). En algunos casos puede producir calambres, náuseas sin vómitos y diarrea, así como espasmos bronquiales, sofoco y trastornos respiratorios graves que suelen confundirse con una crisis alérgica.<sup>(3-6)</sup>

La histamina es un compuesto de presencia normal en el organismo, considerado, como un potente vasodilatador, liberado en ciertos tejidos, como resultado de una hipersensibilidad alérgica o de una inflamación. Se plantea que es el neurotransmisor responsable de que las personas se mantengan conscientes en el estado de vigilia. Se forma a partir de la descarboxilación del aminoácido L-histidina.

El objetivo de este trabajo estuvo centrado en identificar y cuantificar las concentraciones de histamina en los pescados y productos pesqueros llegados al laboratorio de mico toxinas utilizando la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), lo que permitirá alertar a las autoridades sanitarias en los riesgos que puede presentar este producto de no ser conservado adecuadamente.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo transversal para conocer los niveles de histamina en muestras de pescados que fueron recibidas en el laboratorio de Micotoxinas del Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología provenientes de los departamentos de Registro Sanitario de Alimentos, y el Departamento de Higiene e Inocuidad de los Alimentos durante los años 2015, 2016 y 2017. El universo fue de 164 muestras o unidades (entiéndase por unidad a lote o porción de lote).

Las muestras fueron tratadas de la siguiente forma: Las que eran frescas se cortaron en filetes y se fragmentaron en una moledora, las porciones molidas se dividieron en partes, escogiéndose porciones de cada una de estas partes para formar un pool. En el caso de las enlatadas, se les extrajo el líquido (aceite, salmuera o tomate), a todas se les añadió ácido

tricloroacético (TCA) al 10 % para la extracción de la amina biógena.

Se realizaron un total de 164 análisis por duplicado utilizando el método propuesto por Gouygou et al. (1987). De cada muestra de pescado se pesaron 50 g dos veces, luego se diluyeron en 100 ml de TCA al 10 %. Se homogenizó con un equipo Ultraturrax y se centrifugó a 4°C y 350 rpm durante 25 min. Una vez concluido este proceso se filtró el sobrenadante con papel de filtro y luego se volvió a filtrar al vacío por membranas Millipore de 0.45 micras de poro. El líquido filtrado se colocó en viales para proceder a su derivatización con ortoftaldehído (OPA),<sup>7</sup> para luego colocarlo en el HPLC. La identificación se realizó con un estándar de histamina de 100 ppm en TCA al 10 %. La cuantificación de histamina se realizó con un equipo de HPLC Shimadzu con detector de fluorescencia, un autosampler modelo SIL-20A, una bomba LC-20AB, columna de fase reversa (25 cm de longitud × 4.5 mm de diámetro interno y un diámetro de partícula 5 µm), y un detector de fluorescencia (RF-10Axl). Para el análisis de los datos fue utilizado un software cromatográfico Class VP, marca Shimadzu.

El análisis cromatográfico se realizó bajo las siguientes condiciones: volumen de inyección, 20 µl; 0,8 ml/min de flujo; tiempo de análisis, 15 minutos; temperatura del horno de columna, 33 °C;  $\lambda_{exc}$  = 358 nm;  $\lambda_{emisión}$  = 447 nm. La fase móvil está compuesta por fosfato monosódico 50 mmol/L + acetonitrilo.<sup>7</sup> Para el análisis de los resultados del equipo HPLC, se utilizaron pruebas estadísticas compatibles con SPSS.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan la variedad de producto y las cantidades evaluadas por año, se aprecia que los productos entran al laboratorio de forma aleatoria, por lo que no se cuenta con la misma cantidad cada año ni con los mismos productos, por ejemplo, la sardina entró todos los años en diferentes cantidades y variedades, otros productos como el bonito entero llegó a nuestras mesetas todos los años con número de muestras que superaron las 10 unidades por año, el pescado Lenguado solo entró en el 2015 al igual que el pescado Jiguagua, sin embargo en los años 2016 y el 2017, los pescados Macarela y negrito entraron al laboratorio para ser analizados en los dos años, otros como los túnidos, el pescado fogueño y arenque sólo llegaron en una ocasión a nuestro laboratorio (en el año 2016), y los jureles, anchoas y caballas solo arribaron al laboratorio de micotoxinas para su posterior análisis en el año 2017. Como se ve hay muestras que entraron todos los años, otras que entraron solo en dos años de estudio y las que entraron solo en uno de los tres años que duró el período de vigilancia.

**Tabla 1.** Cantidad de productos evaluados por año.

<i>Tipos de productos</i>	<i>Productos evaluados</i>		
	<i>2015</i>	<i>2016</i>	<i>2017</i>
Atún en aceite		6	9
Bonito entero	12	15	15
Caballa fresca			1
Caballa en aceite		1	1
Filete de anchoa			2
Filete de arenque ahumado		1	
Filete de arenque en crema de tomate		1	
Filete de pescado Fogonero		1	
Filete de Túnido precocido en aceite		2	
Filete de Túnido precocido en salmuera		2	
Jurel	5		
Jurel en aceite			1
Jurel en tomate			1
Lenguado	1		
Macarela en aceite		1	1
Macarela en salmuera		2	
Macarela en tomate		1	
Mahi mahi			5
Masa oscura de Túnidos		2	
Mejillón en aceite			1
Mejillón en agua			1
Negríto		10	15
Pescado Jiguagua	5		
Recorte de Túnidos precocido en salmuera		2	
Salmón	1	1	1
Sardina picante			1
Sardina en aceite	1	8	5
Sardina en salmuera	3	4	1
Sardina en tomate	2	9	1
Túnido entero eviscerado fresco		1	
Ventrechas de atún			2
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>70</b>	<b>64</b>

En la Tabla 2 se presenta el estado en que las muestras llegaron al laboratorio, enlatados, frescas o cocidas, se aprecia que el mayor número de muestras recibidas fueron frescas, 56.10 % del total, 38.41 % correspondió a muestras enlatadas, y el 5.48 % fue para las muestras cocidas; en un estudio de vigilancia realizado por Hernández Garcíarena y Suárez Tamayo en este mismo laboratorio entre los años 2010 y 2014 encontraron que el 45.31 % del total de las muestras eran frescas, los enlatados se hicieron corresponder con el 33.51 % y las muestras cocinadas solo llegaron al 4.39 %. Se observa también que hubo especies que llegaron al laboratorio en forma fresca y enlatada, como la caballa, otros como las muestras de

arenque que llegaron al laboratorio en forma ahumada y en crema de tomate, otras especies solo entran frescas porque es la forma más común de consumirlas como el bonito y el pescado negrito, otras como los túnidos que llegaron al laboratorio en forma fresca, enlatada y cocida, en el estudio realizado en el período comprendido entre 2010 y 2014 se encontró que el porcentaje de muestras cocinadas es bajo al igual que aquí con porcentos por debajo de 10 en ambos casos, los enlatados también reportan valores muy cercanos encontrándose en ambos casos entre 30 y 40 por ciento y en el caso de los frescos si existe una mayor diferencia pues en el estudio anterior se encuentran los valores entre 40 y 50 % y en este estudio los valores oscilan entre 50 y 60 por ciento.

La Tabla 3 muestra los resultados obtenidos de acuerdo a la forma en que llegaron las muestras al laboratorio, se observa en ella que al igual que en el estudio de 2010 – 2014 aquí las muestras con valores de histamina fueron las frescas, cocidas y las enlatadas arrojando valores en algunos casos por debajo del LMR que establece el Registro Sanitario de Alimento (2017),<sup>8</sup> y que a pesar de que el método de análisis es mucho más sensible (aquí se utiliza el HPLC y el estudio anterior utilizó cromatografía en papel de acuerdo a la Food. L. R Journal of AOAC: G: 183 (1977)), además de analizarse un mayor número de muestras los porcentos por debajo del LMR son muy superiores a los obtenidos en el estudio anterior; por ejemplo se obtuvo para fresco, enlatado y cocido valores de 82.76, 78.18 y 26.66 %, y en la actualidad, por el método HPLC, se obtuvieron valores de 91.09, 95.07 y 88.88 % respectivamente.<sup>7</sup>

La Tabla 4 presenta los resultados de las especies analizadas en el laboratorio en el período de estudio. Obsérvese que aquí se analizaron más de 15 especies, en el estudio de vigilancia anterior realizado por este mismo laboratorio el número de especies analizadas no excedió las 10 especies. Aquí se encontró que las muestras con valores por encima de 100 mg / Kg pertenecían a atún enlatado, Bonito y pescado jiguaga fresco, además de una muestra de túnido cocida, corroborando lo que plantea Izquierdo y col. de que la calidad del atún enlatado puede estar determinada por diversos factores, entre ellos la calidad de la materia prima empleada y el medio en el que es enlatado, los resultados de Hernández Garcíarena y Suarez Tamayo, en el estudio del 2010 al 2014 muestran que el 21.81 % de las muestras enlatadas presentaban valores de histamina por encima de 100 mg/Kg, el 17.24 % de las muestras frescas presentaron valores de histamina por encima del LMR y el 73.33 % de las muestras cocidas

**Tabla 2.** Estado físico en que llegaron las muestras al laboratorio.

Muestra	Fresco	Enlatado	Cocido
Atún en aceite		15	
Bonito entero	42		
Caballa fresca	1		
Caballa en aceite		2	
Filete de anchoa	2		
Filete de arenque ahumado			1
Filete de arenque en crema de tomate		1	
Filete de pescado Fogonero	1		
Filete de Túnido precocido en aceite			2
Filete de Túnido precocido en salmuera			2
Jurel	5		
Jurel en aceite		1	
Jurel en tomate		1	
Lenguado	1		
Macarela en aceite		2	
Macarela en salmuera		2	
Macarela en tomate		1	
Mahi mahi	5		
Masa oscura de Túnidos	2		
Mejillon en aceite		1	
Mejillon en agua		1	
Negrito	25		
Pescado Jiguagua	5		
Recorte de Túnidos precocido en salmuera			2
Salmón	3		
Sardina picante		1	
Sardina en aceite		14	
Sardina en salmuera		8	
Sardina en tomate		12	
Túnido entero eviscerado		1	
Ventrechas de atún			2
Total	92	63	9
Porcientos totales	56.10	38.41	5.48

**Tabla 3.** Resultados según tipo de muestra.

Estado de las muestras	Número de muestras	% por encima de 100 mg/kg	% por debajo de 100 mg/kg
Fresco	92	8.91	91.09
Enlatado	63	4.93	95.07
Cocido	9	11.11	88.88

también presentaban valores elevados; en el estudio actual los valores de histamina por encima del LMR se encontraban en 8.91 % para las muestras frescas, 4.93 % para las muestras enlatadas y 11.11 % para las muestras cocidas.

## CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados del estudio, el 7.31 % de las muestras analizadas presentan valores de histamina por encima del LMR lo que demuestra la importancia de mantener una vigilancia alimentaria sobre este producto.

Se recomienda realizar estudios que identifiquen o sugieran la flora microbiana presente en las especies de pescados y los productos pesqueros para determinar la capacidad de producción de histamina en los diferentes tipos de pescados.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Fernández Jeri, Armstrong, Control de la producción de histamina durante el deterioro del pescado. 2002. <http://tarwi.lamolina.edu.pe/~leojeri/hidrobiologico.htm>
2. Siegel Jerome. La histamina juega un papel decisivo en el mantenimiento de la conciencia. 2004. <http://www.e-medico.com/noticiasDelDia/verNoticia.php?noticia=29979>
3. Pinillos M. A., Gómez J., Elizalde J., Dueñas A. Intoxicación por alimentos, plantas y setas. 2003. [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1137-66272003000200015&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272003000200015&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
4. Pulsomed. Intoxicaciones alimentarias. 2004. [http://www.tuotromedico.com/temas/intoxicaciones\\_alimentarias.htm](http://www.tuotromedico.com/temas/intoxicaciones_alimentarias.htm)
5. Prado J, Valeria, Solari G, Verónica, Alvarez A, Isabel M Situación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos en Santiago de Chile: Período 1999-2000. *Rev. Méd. Chile.* 2002, 130:495-501. [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-98872002000500003&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872002000500003&lng=es&nrm=iso).
6. Burkhart A. La intolerancia a la histamina: ¿podría ser la causante de sus síntomas?. 2017. <http://www.theceliacmd.com/2014/03/la-intolerancia-a-la-histamina-podria-ser-la-causante-de-sus-sintomas/>
7. Gouygou J, Sinquin, C, Durand, P. High Pressure Liquid. Chromatography. Determination of Histamine in Fish. *J. Food Sci.* 1987. 52 (4): 925- 927.
8. Registro Sanitario de Alimentos, Cosméticos, Juguetes y otros productos de Interés Sanitario. Regulaciones e Indicadores. Instituto de Nutrición

**Tabla 4.** Especies recibidas en el laboratorio durante el período de estudio.

Especies	2015		2016		2017	
	> 100 mg/kg	< 100 mg/kg	>100 mg/Kg	< 100 mg/Kg	>100 mg/Kg	< 100 mg/Kg
Anchoa						2
Arenque				2		
Atún				6	3	8
Bonito	2	10	2	13	3	12
Caballa				1		2
Fogonero				1		
Jiguagua	1	4				
Jurel		5		1		2
Lenguado		1				
Macarela				4		1
Mahi Mahi						5
Mejillones						2
Negrilo				10		15
Sardina		6		20		8
Salmón		1		1		1
Túnido			1	8		

e Higiene de los Alimentos. República de Cuba. Ministerio de Salud Pública, La Habana 2017, 6<sup>ta</sup> versión.

9. Hernández Garcíarena, I. Suárez Tamayo, S. Contenido de histamina en pescados y productos pesqueros. Efectos de la vigilancia en el período 2010-2014. *La Industria Cárnica Latinoamericana*, N° 192. 2015.

10. Izquierdo Pedro, García Aleida, Rivas Deisy, García Aiza, Allara María, González Peggy, 2007. Análisis proximal y determinación de histamina en atún enlatado en aceite y al natural. *Rev. Cient. (Maracaibo)* v.17 n.6 Maracaibo dic. 2007.