



# MÉTODO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

---

## MÉTODO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

Rosario Muñoz, Blanca de las Rivas, Ángela Marcobal y Alfonso V. Carrascosa

Departamento de Microbiología

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC



# MÉTODO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

---

## AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

### ¿QUÉ SON?

Son bases orgánicas, producidas mayoritariamente por la descarboxilación bacteriana de los aminoácidos presentes en los alimentos

### ¿POR QUÉ INTERESAN EN ALIMENTACIÓN?

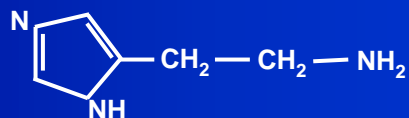
- \* Porque poseen propiedades vasoactivas y/o psicoactivas
- \* Porque pueden producir intoxicaciones alimentarias



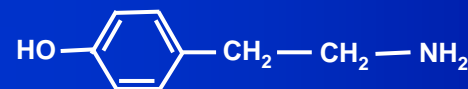
# MÉTODO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

## AMINAS BIÓGENAS MAYORITARIAS



**HISTAMINA**  
(HISTIDINA)



**TIRAMINA**  
(TIROSINA)



**PUTRESCINA**  
(ORNITINA)



**CADAVERINA**  
(LISINA)



# MÉTODO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

## HISTAMINA

- Descarboxilación de la HISTIDINA
- Síntomas: hipotensión, hormigueo, calambres, vómitos, .
- Factores potenciadores:
  - presencia de putrescina y cadaverina
  - factores farmacológicos
  - alcohol
- Detoxificación: MAO, DAO, HMT

## TIRAMINA

- Descarboxilación de la TIROSINA
- Síntomas: migraña

## PUTRESCINA y CADAVERINA

- Descarboxilación de la ORNITINA y LISINA
- Potenciadores de los efectos tóxicos de la histamina
- Producción de nitrosaminas carcinogénas (PUTRESCINA)



# MÉTODO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

## ESCOMBROIDOSIS (*Scombroid poisoning*): Intoxicación alimentaria por HISTAMINA

- \* En EE.UU., representa un 5% de todas las intoxicaciones alimentarias notificadas al CDC
- \* En Japón, 1968 a 1980, 42 incidentes con 4122 personas intoxicadas
- \* Relacionada con el consumo de pescados de la familia *Scombroidea*, como atún, caballa, bonito, melva..
- \* Síntomas: erupción cutánea, bajada de la presión sanguínea, vómitos, diarrea,..



# MÉTODO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

---

## REACCIÓN AL QUESO (*Cheese reaction*): Intoxicación alimentaria por TIRAMINA

- \* Relacionada con el consumo de alimentos y bebidas fermentadas, como quesos, cervezas, vino,...
- \* Síntomas: aumento de la presión sanguínea, de la respiración, del ritmo cardíaco,...
- \* Responsable de la migraña que se produce después del consumo de estos alimentos



# MÉTODO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

---

## PRESENCIA DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

### Alimentos fermentados

Producidas por bacterias responsables de la fermentación:

- \*Productos lácteos (quesos,...)
- \*Bebidas (cervezas, vinos,...)
- \*Productos cárnicos (embutidos curados,...)

### Alimentos no fermentados

Producidas por bacterias alterantes del alimento



# MÉTODO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

---

## BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS

- \* La capacidad para descarboxilar aminoácidos es muy variable entre bacterias
- \* A veces la capacidad para descarboxilar un aminoácido viene determinada por la especie
- \* Sin embargo, en la mayoría de las ocasiones, esta capacidad está presente sólo en determinadas cepas de una especie

### MÉTODOS DE DETECCIÓN:

- \* Problemas de los medios de cultivo diferenciales
- \* Pérdida del fenotipo en medios y condiciones de laboratorio

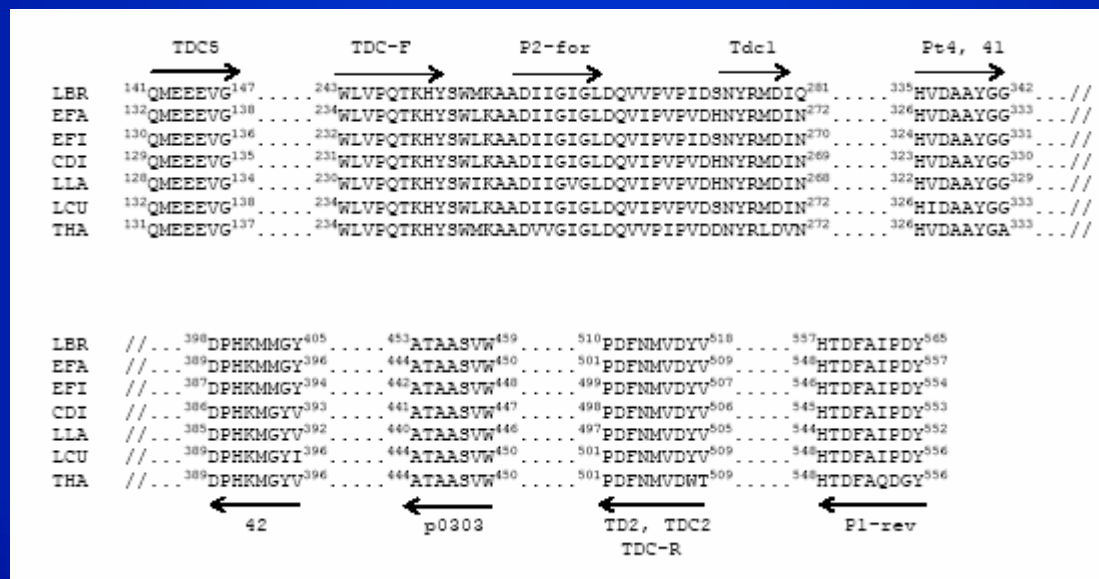


# MÉTODO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

## AMINOÁCIDO DESCARBOXILASAS BACTERIANAS

Presentan motivos de aminoácidos conservados que permiten el diseño de oligonucleótidos para detectar mediante PCR los genes que codifican estas descarboxilasas





# MÉTODO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

## MÉTODO DE PCR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE: HISTAMINA, TIRAMINA, CADAVERINA Y PUTRESCINA

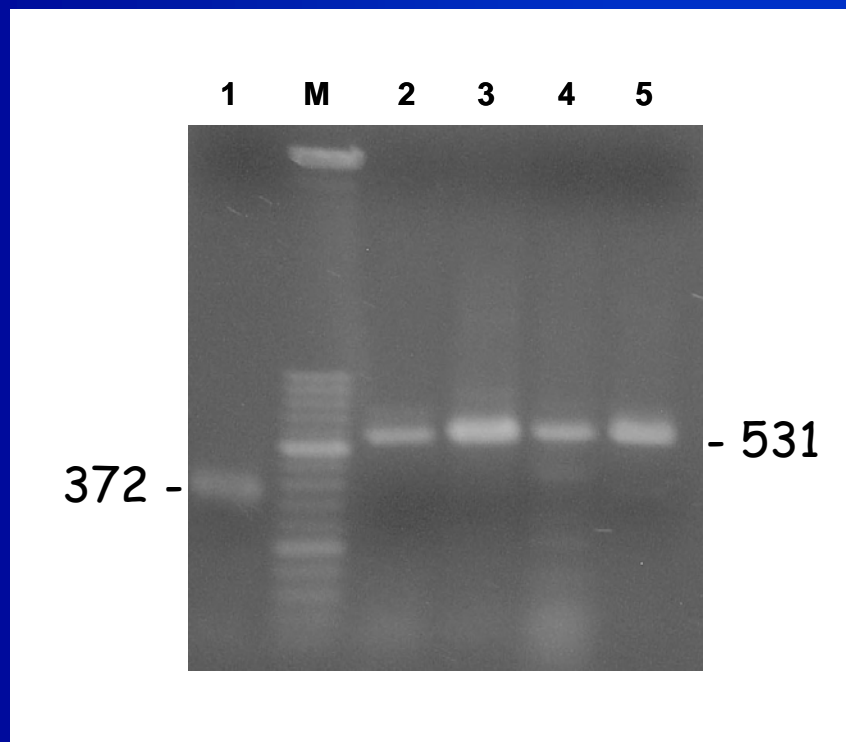
Amina biogéna	Proteína	Cebadores	Tamaño (pb)
<b>HISTAMINA</b>	<b>Histidina DC</b>	<b>HIS1/f - HIS1/r</b> <b>HIS2/f - HIS2/r</b>	<b>372</b> <b>531</b>
<b>TIRAMINA</b>	<b>Tirosina DC</b>	<b>TYR/f - TYR/r</b>	<b>825</b>
<b>PUTRESCINA</b>	<b>Ornitina DC</b>	<b>PUT1/f - PUT1/r</b> <b>PUT2/f - PUT2/r</b>	<b>1440</b> <b>624</b>
<b>CADAVERINA</b>	<b>Lisina DC</b>	<b>CAD1/f - CAD1/r</b> <b>CAD2/f - CAD2/r</b>	<b>1098</b> <b>1185</b>



# MÉTODO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

## DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE HISTAMINA



Gram + (372 pb)

1. *Lactobacillus 30a*

Gram - (531 pb)

2. *Morganella morganii*

3. *Photobacterium phosphoreum*

4. *Photobacterium damsela*

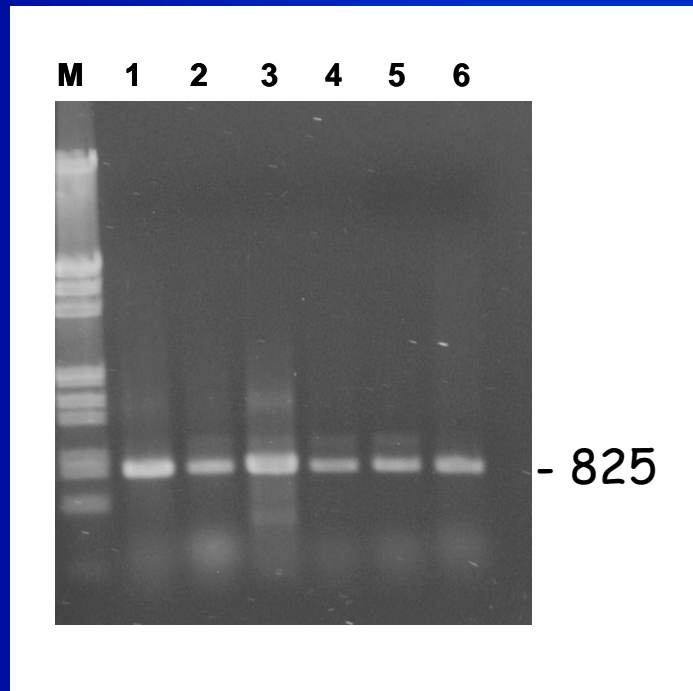
5. *Proteus vulgaris*



# MÉTODO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

## DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE TIRAMINA\*



Gram + (825 pb)

1. *Enterococcus faecalis*
2. *Enterococcus faecalis*
3. *Lactobacillus brevis*
4. *Lactobacillus brevis*
5. *Carnobacterium divergens*
6. *Enterococcus faecium*

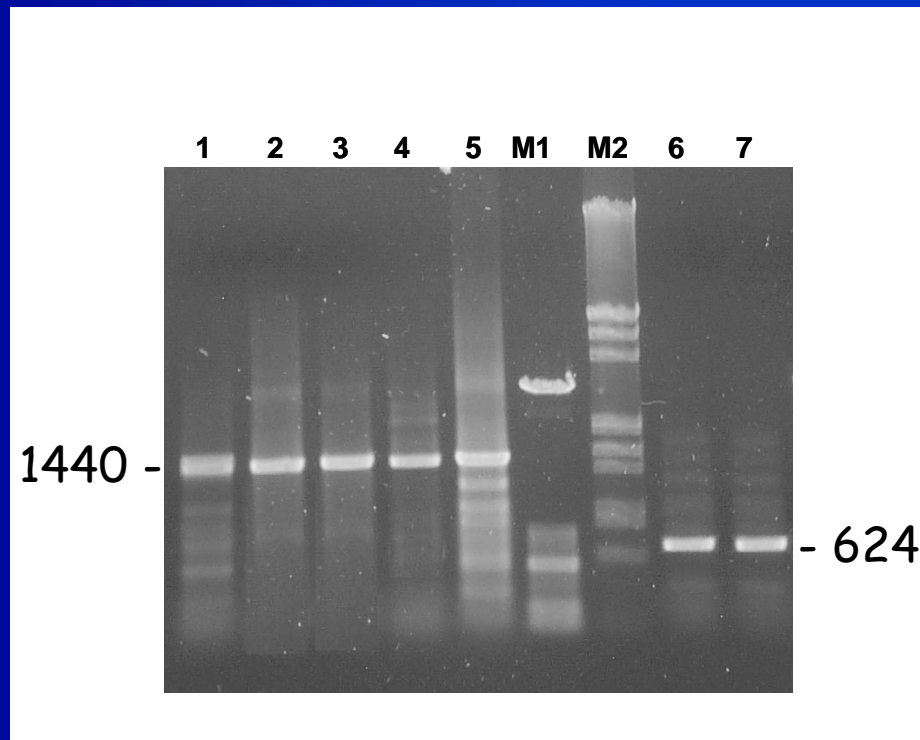
\*(y productoras de feniletilamina)



# MÉTODO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

## DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE PUTRESCINA



### Grupo 1 (1440 pb)

1. *Escherichia coli*
2. *Morganella morganii*
3. *Lactobacillus 30a*
4. *Serratia liquefaciens*
5. *Oenococcus oeni*

### Grupo 2 (624 pb)

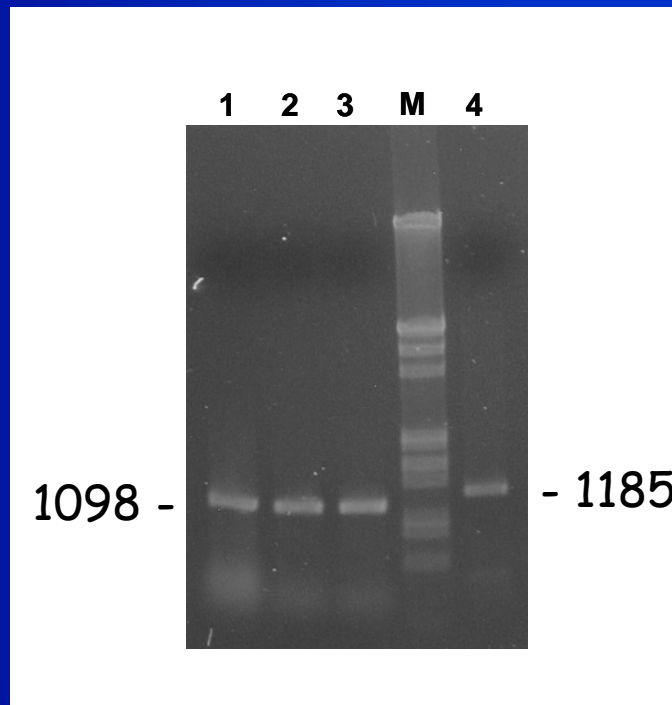
6. *Pseudomonas aeruginosa*
7. *Pseudomonas fluorescens*



# MÉTODO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

## DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE CADAVERINA



Gram - (1098 pb)

1. *Shigella flexneri*
2. *Shigella sonnei*
3. *Escherichia coli*

Gram + (1185 pb)

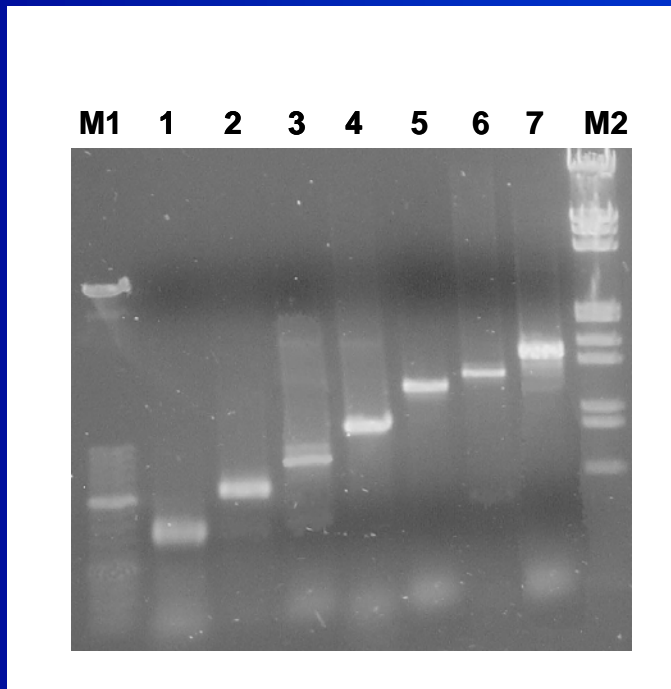
4. *Streptococcus sp.*



# MÉTODO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

## DETECCIÓN SIMULTÁNEA DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS



- |    |           |             |              |
|----|-----------|-------------|--------------|
| 1. | (372 pb)  | HDC Gram +  | (histamina)  |
| 2. | (531 pb)  | HDC Gram -  | (histamina)  |
| 3. | (624 pb)  | ODC Grupo 2 | (putrescina) |
| 4. | (825 pb)  | TDC Gram +  | (tiramina)   |
| 5. | (1098 pb) | LDC Gram -  | (cadaverina) |
| 6. | (1185 pb) | LDC Gram +  | (cadaverina) |
| 7. | (1440 pb) | ODC Grupo 1 | (putrescina) |



# MÉTODO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS EN ALIMENTOS

Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC

## PATENTE 200402314:

### DETECCIÓN SIMULTÁNEA DE BACTERIAS PRODUCTORAS DE AMINAS BIÓGENAS

#### Ventajas del método:

- \* Determina la capacidad potencial para producir aminos de las bacterias que existen o se están desarrollando en el alimento.

#### Utilización del método:

##### \* En alimentos fermentados

- \* Determinar la capacidad para producir aminos de los cultivos iniciadores utilizados en la fermentación.

- \* En el caso de fermentaciones espontáneas, para realizar un control de la idoneidad de las bacterias que la están llevando a cabo.

##### \* En alimentos no fermentados

- \* Conocer la microbiota alterante presente con capacidad para producir aminos biógenos.

