

ASPERGILLUS NIGER (STERIGMATO-CYSTIS (DIPLOSTEPHANUS) NIGRA-VAN TIEGHAM, 1877) EN PESCADO SALADO, SECO

Drs. VICTOR H. BERTULLO* y MARCOS HERRERA C.**

INTRODUCCION

En el estudio sistemático de las salazones de pescado en el Uruguay, hemos aislado de distintas piezas, el **Aspergillus niger**.

Las contaminaciones con hongos de dichos productos, son frecuentes, dependiendo su constatación al examen subjetivo, del grado de humedad del producto final, pues al ser mayor del 16 %, se vuelven visibles a simple vista.

Tarr (7), (8) comunica que en general, se desarrollan solamente a un 80 % o mayor humedad relativa, que corresponde a un contenido acuoso del 16,8 al 18,3 %.

Cutting (2), ratifica los conceptos vertidos por el autor precedentemente citado. La presencia del **Aspergillus niger** ha sido señalada en distintos productos curados por la sal, por Pietre (5), que lo encuentra en preparados de chacinería y por Dieuzeide y Novella (3), en las salazones de pescados argelinos.

Material y Métodos

El material utilizado en las investigaciones, estuvo constituido por piezas saladas, secas, de Cazon (**Mustellus smithi**) y de Brótola (**Urophisys**

* Tecnólogo Pesquero. Jefe del Dpto. de Investigaciones Pesqueras y Fauna Indígena de la Facultad de Veterinaria. Jefe del Contralor Sanitario del Servicio Oceanográfico y de Pesca.

** Médico-Veterinario. Colaborador Honorario del Dpto.

brasiliensis), en las cuales constatamos a simple vista, pequeñas manchas del tamaño de la cabeza de un alfiler, poco abundantes y diseminadas en ambas caras del producto, presentando el aspecto del "Black spot" de las carnes congeladas, Jensen (4).

Al examen microscópico directo, el raspaje de tales manchas aclarado previamente con lacto-fenol de Annam, permitió observar los elementos característicos del *Aspergillus niger*.

El aislamiento y purificación de specimen se efectuó utilizando como medio de cultivo, el Agar dextrozado de Sabouraud (Difco) adicionado del 10 % de cloruro de sodio, el cual fué extendido en pico de flauta y en cajas de Petri, luego de esterilización a 15 lbs. durante 15 minutos.

La incubación se llevó a cabo, a temperatura de laboratorio (22°-24°C) y a 37°C., siendo ésta más favorable que aquélla, para el desarrollo del hongo.

Tolerancia salina. — Con la finalidad de conocer cual era la concentración salina que más favorecía el crecimiento de *Aspergillus niger*, se preparé Caldo Nutritivo (Difco) con el agregado de cloruro de sodio en distintas cantidades, para obtener así concentraciones variables del 5 al 25 %.

La inoculación se hizo con un cultivo puro y el crecimiento se controló día a día, tal cual aparece en la Tabla adjunta.

Porcentaje de NaCl	Incubación a 37° C.					
	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	5 días	10 días	15 días
5 %	++	+++				
10 %	++	+++				
15 %	++	+++				
20 %	+	+	+	++	++	++
25 %	—	—	—	+	+	+

- (—) sin crecimiento
- (+) crecimiento pobre
- (++) buen crecimiento
- (+++) excelente crecimiento.

De la consideración de la Tabla precedente, se observa que las concentraciones de cloruro de sodio del 5 al 15 %, permiten un buen crecimiento a las 24 hrs. de cultivo y uno excelente a las 48 hrs., mientras que el 20 % solo a los cinco días se obtiene un crecimiento bueno. Cuando el porcentaje de NaCl llega al 25 %, el crecimiento es pobre, luego de quin-

de días de observación, lo que no coincide con el desarrollo que toma *Aspergillus niger* sobre el pescado salado, seco. Este hecho puede explicarse, aplicando lo que comunican Puncoschar y Arana (6) en su estudio sobre las bacterias productoras del "rojo" en el pescado salado, cuando sostienen que "las enzimas presentes en la materia prima y mejor la microflora encontrada en el medio ambiente natural, pueden contribuir a que las bacterias productoras del "rojo" subsisten aun, en contacto con salmuera saturada o sal". Para rectificar este concepto, se sembró el hongo en caldo nutritivo con NaCl al 25 %, la mitad de los tubos con trozos de Brótola, saada, seca, incubándoseles a 37°C. y a temperatura de laboratorio (22-24°C). Mientras que el crecimiento del hongo en el medio sin bacalao se efectuaba en la forma dificultosa antes mencionada, se llevaba perfectamente a cabo en el que tenía trozos de pescado salado. En los presentes momentos se estudian las bacterias de este último cultivo, para intentar determinar su posible influencia en el desarrollo de *Aspergillus niger*.

Mecánica de la contaminación

La contaminación de los productos pesqueros se produce, favorecida por la humedad, por un contacto prolongado de la salazón con el aire y el desarrollo consiguiente del hongo, en suspensión en la atmósfera, limitándose generalmente a la superficie de la carne y no volviéndose peligrosa si no alcanza las partes internas según comunican Dieuzeide y Novella (3).

Para ratificar este concepto y buscar otras formas del mecanismo de la contaminación, se tomaron diversas piezas de Brotola recién retiradas de la salazón y antes de colocarlas a secar, en las cuales con cultivos puros del hongo, se llevaron a cabo las siguientes experiencias:

- (a) Contaminación superficial en ambas caras de la salazón.
- (b) Contaminación profunda, mediante inyección de 0,1 ½ y 1 mls., de una suspensión del cultivo de referencia, en solución isotónica de cloruro de sodio, esterilizada.
- (c) Las piezas contaminadas como en (a) y (b) fueron divididas en lotes iguales, secándose uno de ellos a la sombra y el otro al sol directo, durante quince días al primero y ocho días el segundo hasta obtenerse una humedad de aproximadamente el 12 %.
- (d) Se contaminó la sal destinada a la salazón, de brótola, manteniéndose el licor resultante a una temperatura promedio de unos 19°C. durante 90 días. Macroscópicamente no se notó ningún crecimiento del hongo y aparentemente el producto final era normal, con la excepción de aquellas piezas inyectadas en profundidad que dejaban transparentar una cierta tonalidad oscura, solo apercibible para los que conocían el "modus operandi". Se tomaron entonces trozos contaminados, que colocados a una temperatura de 37°C. y con una humedad relativa ambiental del 85 %, alcanzaron al cabo de 48 horas, una humedad promedio del 22 %.

REPUBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

En estas condiciones, se determinó que al cabo de 4-6 días, según los casos, el hongo se desarrollaba tanto en superficie como en profundidad.

La salmuera contaminada y la sal sobrante de la experiencia (d) que aparentemente no presentaban ningún aspecto anormal, al ser sembradas previa dilución a diversos títulos en agar dextrozado de Sabouraud, con el 10% de cloruro de sodio e incubado a 37°C., dieron al cabo de 24 horas innumerables colonias de **Aspergillus niger**.

DISCUSION

Los resultados precedentemente expuestos indican que no solo hay que darle importancia a la contaminación superficial atmosférica, aparentemente la menos peligrosa, sino que también a la que resulta por inoculación profunda ya sea por medio de herramientas de trabajo, incisiones mecánicas o de los distintos artificios usados para la suspensión del producto salado, para su secado, que estén contaminados y también, que los esporos tienen una longevidad mayor de tres años, según comunicación de Wehrmer (9).

Tomando en consideración lo comunicado por este autor, los mismos pueden germinar, cuando por almacenamiento prolongado y/o defectuoso, la humedad promedio del producto es mayor del 16,5%.

También debe tenerse en cuenta que **Aspergillus niger** es capaz de mantenerse activo en la sal o salmuera de salazón, por tiempo mayor de 90 días y que de allí puede provenir su acción infectante.

Surge entonces el hecho de que el pescado salado, seco, podría actuar como agente vector durante su manipulación, transporte, ventas, etc., y producir entonces otomicosis, pseudo-tuberculosis, bronquitis crónica con bronquiectasia e infecciones de heridas cutáneas, según comunica Brumpt (1).

CONCLUSIONES

1º) Por primera vez en el Uruguay, se aisló el **Aspergillus niger** en Salazón seca de Brótola (**Urophisys brasiliensis**) y de Cazón (**Mustellus smithi**).

2º) La infección superficial y/o profunda durante la salazón, no desaparece, germinando el espora cuando se le coloca en condiciones favorables de humedad y temperatura.

3º) El **Aspergillus niger** puede permanecer sin modificación aparente en sal y/o salmuera destinada para la salazón, al menos durante 90 días y germina de inmediato cuando se le siembra y cultiva en medios y temperaturas convenientes.

CONCLUSIONS

1st.) By first time in Uruguay, it has been isolated **Aspergillus niger** from Salted dry fish of Brótola (**Urophisys brasiliensis**) and Cazón (**Mustellus smithi**).

2nd.) The superficial and/or deep contamination does not disappear during salting and the spore germinates, when it is put in favourable conditions of humidity and temperature.

3th.) **Aspergillus niger** could remain in salt or brine-without apparent modifications at least for 90 days and germinates immediatly when it is seeded and cultivated in convenient cultural media and temperature.

CONCLUSIONS

1º — Pour la première fois en Uruguay, on obtient l'isolement de l'**Aspergillus niger** - en salaison sèche de Brótola (**Urophisys brasiliensis**) et de Cazón (**Mustellus smithi**).

2º — L'infection superficielle et/ou profonde pendant la salaison, ne disparaît pas, en germinant les spores quand on le place dans des conditions favorables d'humidité et de température.

3º — L'**Aspergillus niger** peut rester sans modification visible dans le sel et/ou dans la saumure destinée à la salaison, aumoins pendant 90 jours et germine immédiatement quand on le sème et cultive dans les milieux et les températures convenables.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

1) Zum ersten Male wurde in Uruguay **Aspergillus niger** aus gesalzten Trockenkonserven von Brótola (**Urophisys brasiliensis**) und von Cazón (**Mustellus smithi**) gezuechtet

2) Die oberflaechliche und tiefe Infektion, oder jede von beiden fuer sich, wird durch den Salzungsvorgang nicht zum Verschwinden gebracht. Die Sporen beginnen wieder zu keimen, sobald sie in guenstige Feuchtigkeits- und Temperaturverhaeltnisse gelangen.

3) **Aspergillus niger** kann anscheinend in dem zur Konservierung bestimmten Salz oder der Salzlake, auch in beiden zusammen, mindestens 90 Tage verbleiben ohne Schaden zu nehmen. Er keimt sofort wieder, sobald man ihn unter zusagenden Verhaeltnissen (Umgebung und Temperatur) aussaecht und zuechtet.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

-
- 1) BRUMPT, E. — Précis de Parasitologie. 5a ed. Vol. II. Masson et Cie. Paris. 1936.

R E P U B L I C A O R I E N T A L D E L U R U G U A Y

- 2) CUTTING, C. L. — Problems of fish preserving for tropical countries
World Fisheries Year Book - 1949 - British Continental Trade Press
Londres, 1949.
- 3) DIEUZEIDE, R. y NOVELLA, M. — Essai sur la Technique des Sa-
laisons de Poissons. Gouvernement Gral. de L'Algerie, Inpection Ge-
neral de Agriculture, Bull. N° 167-1951.
- 4) JENSEN, L. B. — Microbiology of Meats. The Garrand Press. III. U.S.A.
1942.
- 5) PIETRE, M. — Inspection des Viandes et des Aliments d'Origine Carnée
Voi II Balliere et Fils - Paris 1922.
- 6) PUNCOCHAR, J. y ARANA, F. — Studies on the Control of "Reddening"
in Salt fish Products, - Supplement of the Venezuelan Saltfish In-
dustries. Fishery Leaflet 240, Fish and Wildlife Service U. S. De-
partment of the Interior, 1947.
- 7) TARR, H. L. A. — Changes in moisture, microorganisms and vola-
tile bases in dehydrated fish during processing and storage. Fish
Res. Bd. of Can, Progress Rpt. Pacific Coast St. N° 57 - 16-20 1943.
- 8) ————— Water microorganisms and volatile bases in dehydrated fish
J. Fish. Res. Bd. of Can. 6 (4): 303-310. 1945.
- 9) WEHRMER, N. — (Citado por Brumpt).