



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ÁREA ACADÉMICA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y FORESTALES

Biología Aplicada a Productos Marinos: Identificación de *Morganella morganii* y Detección
del Gen *hdc* en Camarón

TESIS

Para obtener el título de
Ingeniera en Biotecnología

PRESENTA

ANGELY GUADALUPE HERNANDEZ GARCIA

DIRECTOR

Dr. Vicente Vega Sánchez

CODIRECTOR

Dra. Nydia Edith Reyes Rodríguez

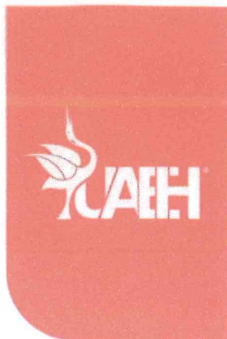
ASESORES

Dra. Margarita Islas Pelcastre

Dr. Víctor Johan Osvaldo Acosta Pérez

Mtro. Luis Gonzales de la Rosa

Abril 2026



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Agropecuarias

Institute of Agricultural Sciences

Área Académica de Ciencias Agrícolas y Forestales

Academic Area of Agricultural and Forestry Sciences

Santiago Tulantepec de Lugo Guerrero, Hgo., a 8 de junio de 2026

Asunto: Autorización de impresión

MTRA. OJUKY DEL ROCÍO ISLAS MALDONADO
DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH

Por este conducto y con fundamento en el Título Cuarto, Capítulo I, Artículo 40 del Reglamento de Titulación, le comunico que el jurado que le fue asignado al pasante de Licenciatura en Ingeniería en Biotecnología, **Angely Guadalupe Hernández García**, quien presenta el trabajo de Tesis denominado **"Biotecnología Aplicada a Productos Marinos: Identificación de *Morganella morganii* y Detección del Gen *hdc* en Camarón"**, que después de revisarlo en reunión de comité de tesis, ha decidido autorizar la impresión de este, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación, se anotan las firmas de conformidad de los miembros del comité de tesis:

DIRECTOR	Dr. Vicente Vega Sánchez
CODIRECTOR	Dra. Nydia Edith Reyes Rodríguez
ASESOR	Dra. Margarita Islas Pelcastre
ASESOR	Dr. Víctor Johan Osvaldo Acosta Pérez
ASESOR	Mtro. Luis González de la Rosa

Sin otro particular por el momento, me despido de usted.

Atentamente
"Amor, Orden y Progreso"

Mtro. Luis González de la Rosa
Coordinador del Programa Educativo
de Licenciatura en Ingeniería en
Biotecnología



"Amor, Orden y Progreso"



2026



Avenida Universidad #133, Col. San Miguel Huatengo,
Santiago Tulantepec de Lugo Guerrero, Hidalgo,
México. C.P. 43775.

Teléfono: 7717172001 Ext. 42173

profe_5566@uaeh.edu.mx

uaeh.edu.mx

TÍTULO

Biotecnología Aplicada a Productos Marinos: Identificación de *Morganella morganii* y
Detección del Gen *hdc* en Camarón

ÍNDICE

1. Resumen	6
2. Abstract	7
3. Introducción	8
4. Revisión de literatura	10
4.1. Productos marinos en México	10
4.2. Perfil bacteriano de productos marinos	11
4.3. <i>Morganella morganii</i>	13
4.3.1. Identificación y establecimiento de <i>Morganella morganii</i> como agente etiológico	13
4.3.2. Taxonomía del género <i>Morganella</i>	15
4.3.3. Características del género <i>Morganella</i>	15
4.3.4. Hábitat	15
4.3.5. Factores de patogenicidad y virulencia	16
4.3.6. Manifestaciones clínicas y determinantes predisponentes en infecciones por <i>Morganella morganii</i>	18
4.3.7. Implicaciones de la producción de histamina por <i>Morganella morganii</i> en camarones: un riesgo para la inocuidad alimentaria	19
4.4. Técnicas de identificación bacteriana	21
4.4.1. Pruebas bioquímicas	21
4.4.2. Pruebas serológicas	21
4.4.3. MALDI-TOF-MS	22
4.4.4. Secuenciación del gen ARNr 16s	23
5. Justificación	25
6. Hipótesis	26
7. Objetivo general	27
7.1. Objetivos específicos	27
8. Material y Métodos	28
8.1. Origen de los aislamientos	28
8.2. Recolección de la muestra	28
8.3. Aislamiento bacteriológico	29

8.4. Activación de bacterias	29
8.5. Identificación de Bacterias en MALDI-TOF MS	30
8.6. Extracción de ADN para identificar el gen <i>hdc</i>	30
8.7. Cuantificación de ADN	31
8.8. PCR del gen <i>hdc</i>	31
8.9. Electroforesis	33
9. Resultados y discusión	34
10. Conclusión	43
11. Referencias	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Síntesis de histamina.....	20
Figura 2. Identificación del gen <i>hdc</i> mediante PCR	39

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1. Principales Infecciones causadas por <i>Morganella morganii</i>.....	18
Tabla 2. Resultados de identificación por MALDI-TOF MS y detección del gen <i>hdc</i> mediante PCR	34

Agradecimientos

A mi director de tesis, el Dr. Vicente Vega Sánchez, y a mi codirectora, la Dra. Nydia Edith Reyes Rodríguez, por su valiosa asesoría, su amistad y por permitirme integrarme a su laboratorio (Laboratorio de Genética Genómica Investigación, Instituto de Ciencias Agropecuarias). Su orientación y confianza fueron fundamentales para el desarrollo de este trabajo.

A mis asesores, la Dra. Margarita Islas Pelcastre, el Dr. Víctor Johan Osvaldo Acosta Pérez y el Mtro. Luis González de la Rosa, por sus acertados consejos, acompañamiento académico y apoyo constante durante la elaboración de esta investigación.

Al Laboratorio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, por brindarme acceso a la herramienta biotecnológica MALDI-TOF MS para la identificación de bacterias, un recurso clave para la realización de este proyecto.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Genética Genómica Investigación, por la convivencia diaria, su apoyo y el ambiente de colaboración que enriqueció mi formación académica y personal.

DEDICATORIA

A mis padres por ser mi base, mi guía y mi mayor inspiración. Gracias por su amor incondicional, por cada palabra de aliento, cada gesto de apoyo y cada sacrificio silencioso que me permitió llegar hasta aquí. Ustedes me enseñaron, con su ejemplo, el valor del esfuerzo, la honestidad y la perseverancia. Este logro es fruto del camino que recorrimos juntos, de sus enseñanzas y de su fe inquebrantable en mí.

A mi hermano, por ser mi compañero de vida, por su apoyo y por estar siempre ahí, con una palabra de aliento o una sonrisa cuando más la necesitaba.

A mi tía Nancy, por ser un ejemplo de fortaleza y dedicación, y por acompañarme con cariño a lo largo de este proceso. Gracias por cada consejo, cada palabra de apoyo y por confiar siempre en mí.

A mis amigas Andrea y Ángeles, por su compañía, por las conversaciones que aligeraron los momentos difíciles y por los buenos ratos que me ayudaron a mantener el equilibrio entre el estudio y la vida personal. Gracias también a quienes, con su presencia constante y su cariño sincero, hicieron este camino más ligero y significativo. Gracias por ser parte de este proceso.

1. Resumen

La incorporación de plataformas biotecnológicas avanzadas ha transformado la identificación y caracterización de bacterias presentes en productos marinos, posibilitando diagnósticos más rápidos, precisos y con mayor capacidad de discriminación molecular. En este estudio se integraron dos herramientas clave de la biotecnología moderna: la espectrometría de masas tipo MALDI-TOF para la caracterización proteómica de aislamientos bacterianos y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) dirigida al gen *hdc* como marcador molecular de capacidad histaminogénica. Estas tecnologías se aplicaron para la identificación y validación funcional de cepas de *Morganella morganii* aisladas de camarones (*Litopenaeus vannamei*) comercializados en el municipio de Tulancingo de Bravo, Hidalgo. Tras el aislamiento primario, las bacterias fueron sometidas a análisis proteómico mediante MALDI-TOF, logrando una identificación taxonómica robusta y confiable de *M. morganii* en todos los aislamientos. Posteriormente, se realizó la extracción de ADN genómico y la amplificación específica del gen *hdc*, obteniéndose una detección positiva en el 100 % de las muestras evaluadas, lo que confirma su potencial biotecnológico para la producción de histamina. Los resultados demuestran la eficacia sinérgica de MALDI-TOF y PCR como herramientas biotecnológicas complementarias para el diagnóstico microbiológico y la vigilancia molecular en productos marinos. Este enfoque no solo fortalece las estrategias de identificación rápida, sino que también aporta una plataforma tecnológica relevante para el monitoreo del riesgo histaminogénico en la cadena de distribución y comercialización de productos marinos. Su aplicación contribuye a establecer sistemas de control más eficientes y tecnológicamente sustentados, orientados a garantizar la inocuidad, calidad y trazabilidad en la industria pesquera.

Palabras clave: *Morganella morganii*, histamina, gen *hdc*, MALDI-TOF y PCR.

2. Abstract

The incorporation of advanced biotechnological platforms has transformed the identification and characterization of bacteria present in seafood, enabling faster and more accurate diagnoses with greater molecular discrimination capacity. In this study, two key tools of modern biotechnology were integrated: MALDI-TOF mass spectrometry for the proteomic characterization of bacterial isolates and polymerase chain reaction (PCR) directed to the *hdc* gene as a molecular marker of histaminogenic capacity. These technologies were applied for the identification and functional validation of *Morganella morganii* strains isolated from shrimp (*Litopenaeus vannamei*) marketed in the municipality of Tulancingo de Bravo, Hidalgo. After primary isolation, the bacteria were subjected to proteomic analysis by MALDI-TOF, achieving a robust and reliable taxonomic identification of *M. morganii* in all isolates. Subsequently, genomic DNA extraction and specific amplification of the *hdc* gene was performed, obtaining a positive detection in 100 % of the samples evaluated, confirming its biotechnological potential for histamine production. The results demonstrate the synergistic efficacy of MALDI-TOF and PCR as complementary biotechnological tools for microbiological diagnosis and molecular surveillance in seafood. This approach not only strengthens rapid identification strategies, but also provides a relevant technological platform for monitoring histaminogenic risk in the the distribution and commercialization chain of marine products. Its application contributes to establishing more efficient and technologically sustained control systems aimed at guaranteeing safety, quality and traceability in the fishing industry.

Keywords: *Morganella morganii*, histamine, *hdc* gene, MALDI-TOF, PCR.

3. Introducción

La biotecnología aplicada a la inocuidad de los productos marinos ha cobrado un papel fundamental en México, el sector pesquero representa una actividad económica de gran relevancia, especialmente en las regiones costeras, donde la pesca representa una fuente importante de empleo, producción y exportación (Campiña & Campiña, 2023). Sin embargo, la elevada susceptibilidad de los productos marinos al deterioro microbiológico demanda el uso de tecnologías avanzadas capaces de detectar, con alta precisión, bacterias con relevancia sanitaria como *Morganella morganii*, *Vibrio* spp., *Clostridium* spp., *Aeromonas* spp. y *Salmonella* spp., las cuales pueden contaminar los alimentos y generar problemas de inocuidad. La proliferación de estos microorganismos en condiciones inadecuadas de manipulación o almacenamiento puede derivar en la formación de compuestos tóxicos, como la histamina, asociada a intoxicaciones alimentarias de tipo escombroides (Ampuero et al., 2018).

Dentro de este contexto, *M. morganii* ha despertado un interés particular debido a su capacidad para producir histamina a partir de la descarboxilación de la histidina, lo que representa un riesgo sanitario en productos marinos mal conservados (Tortorella et al., 2014). Los cuadros de intoxicación por histamina se caracterizan por síntomas como enrojecimiento, cefalea, náuseas y, en casos graves, dificultad respiratoria (Feng, Teuber, & Gershwin, 2016).

El control y monitoreo de estas bacterias requieren métodos de identificación rápidos y precisos. Las pruebas bioquímicas convencionales, aunque útiles, pueden resultar limitadas para discriminar especies con características fenotípicas similares. En contraste, técnicas biotecnológicas como la espectrometría de masas MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization–Time of Flight) han revolucionado la microbiología aplicada al análisis de alimentos, al permitir una identificación confiable basada en los perfiles proteicos bacterianos (Ashfaq et al., 2021). Esta tecnología posibilita la identificación de patógenos en minutos, optimizando la trazabilidad y el control de calidad en la industria pesquera. Complementariamente, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) constituye una herramienta molecular esencial para la detección de genes asociados a la producción de histamina, como el gen *hdc* (histidina descarboxilasa). Su alta sensibilidad y especificidad permiten confirmar la presencia de cepas con potencial histaminogénico, como *M. morganii*,

incluso en concentraciones bacterianas bajas (Klanian et al., 2018). El uso conjunto de MALDI-TOF y PCR ofrece un enfoque integral para la identificación y caracterización de microorganismos en productos marinos, fortaleciendo la capacidad diagnóstica de los laboratorios de control sanitario.

La aplicación de estas metodologías moleculares representa un avance significativo en el monitoreo microbiológico, al proporcionar resultados confiables en menor tiempo y con mayor precisión. En este sentido, la identificación temprana de bacterias productoras de histamina es fundamental para mitigar los riesgos asociados al consumo de productos marinos contaminados (Uehara et al., 2021).

El presente estudio tuvo como objetivo identificar la presencia del gen *hdc* en cepas sospechosas de pertenecer a la especie *M. Morganii*, mediante el uso combinado de las técnicas MALDI-TOF y PCR, con el propósito de caracterizar su potencial e implicación en la producción de histamina.

4. Revisión de literatura

4.1. Productos marinos en México

La producción pesquera constituye una actividad económica esencial para México, estrechamente vinculada al aprovechamiento sustentable de los recursos marinos y al desarrollo de las comunidades costeras. Gracias a su extensa línea litoral, que supera los 11 000 km, y a la diversidad de ecosistemas marinos que alberga, el país se posiciona entre los principales productores pesqueros de América Latina. Esta riqueza biológica se refleja en una gran variedad de especies con alto valor comercial y nutricional, como atunes, sardinas, anchovetas, camarones y calamares. Los productos marinos representan una fuente fundamental de proteína animal para la población y contribuyen a la seguridad alimentaria, el desarrollo económico regional y la identidad gastronómica nacional. De acuerdo con la Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (CONAPESCA, 2024), la producción nacional de productos marinos alcanzó más de 1.9 millones de toneladas durante 2023. Por su parte, el consumo per cápita de productos marinos en México se estima entre 12 y 13 kg por persona al año, según el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (2022).

Los productos marinos representan una fuente valiosa de nutrientes esenciales: aportan proteínas de alto valor biológico, ácidos grasos omega-3, vitaminas liposolubles como A, D y E, así como minerales como hierro, zinc, yodo y selenio. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2022), estos productos proporcionan aproximadamente el 17% de la proteína animal consumida a nivel mundial, lo que los convierte en un pilar de la seguridad alimentaria, especialmente en países en desarrollo donde las alternativas proteicas pueden ser más limitadas.

El país cuenta con una amplia variedad de especies explotadas comercialmente, como camarón, atún, mojarra, tilapia, pulpo y diversas especies de escama, lo que le permite abastecer tanto el mercado nacional como el internacional. La exportación de productos marinos genera importantes ingresos, con mercados clave en Estados Unidos, China y la Unión Europea (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2015).

Dentro de este grupo de alimentos, el camarón sobresale por su perfil nutricional excepcional. Una porción de 100 g contiene cerca de 20 g de proteína, lo que equivale al 28% del requerimiento diario recomendado para un adulto. Además, es una fuente rica en selenio (84% del valor diario), vitamina B12 (59%), fósforo (33%) y zinc (14%) (NutritionValue.org, 2024). También aporta ácidos grasos omega-3, reconocidos por sus efectos positivos en la salud cardiovascular y cognitiva (Phadtare et al., 2021).

Gracias a esta combinación de nutrientes, el camarón no solo es un alimento nutritivo, sino también una herramienta estratégica para combatir deficiencias alimentarias y fomentar dietas más equilibradas y sostenibles. Sin embargo, el aprovechamiento de estos productos implica también una responsabilidad en cuanto a su inocuidad y calidad sanitaria. La susceptibilidad de los productos marinos a la contaminación microbiana y a la formación de compuestos tóxicos, como la histamina en especies susceptibles, demanda una vigilancia constante y el uso de tecnologías avanzadas para garantizar su seguridad para el consumo humano.

4.2. Perfil bacteriano de productos marinos

En México, el consumo de productos marinos ha crecido sostenidamente, impulsado por la variedad de especies disponibles, el valor cultural de su preparación y los beneficios para la salud derivados de su ingesta. No obstante, cuando no se aplican buenas prácticas desde la captura hasta la distribución, incluyendo su transporte, conservación y comercialización, se comprometen tanto su calidad como su inocuidad, lo que puede favorecer la proliferación de patógenos como *Listeria monocytogenes*, *M. morganii* y *Salmonella* spp., *Vibrio* spp., generando un riesgo importante para la salud pública (FAO, 2003; FAO, 1999; Frith et al., 2023).

El perfil bacteriano de estos alimentos es un aspecto crítico que influye directamente en su calidad, frescura e inocuidad. Diversas especies bacterianas pueden estar presentes de manera natural o introducirse durante el procesamiento post-captura, algunas de las cuales pueden actuar como indicadores de higiene, deterioro o incluso representar un riesgo para la salud pública. Entre ellas, se encuentran bacterias productoras de toxinas o aminas biógenas, como la histamina, cuya presencia puede desencadenar intoxicaciones

alimentarias, especialmente en productos derivados de especies pelágicas (Khatouf et al., 2024).

Los productos marinos pueden albergar diversas bacterias, algunas de ellas con potencial patógeno, lo que representa un riesgo significativo para la salud humana. Su presencia depende de múltiples factores, como las condiciones ambientales, la contaminación del agua, la manipulación durante la captura, el almacenamiento inadecuado y el procesamiento del producto. La proliferación de estas bacterias se ve favorecida por condiciones de temperatura y humedad elevadas, así como por una inadecuada higiene en la cadena de suministro (Ampuero et al., 2018).

Entre las bacterias patógenas más comunes identificadas en productos marinos se encuentran aquellas que pueden causar infecciones gastrointestinales, septicemia y otras complicaciones de salud. Entre ellas *Vibrio* spp., incluyendo especies como *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* y *Vibrio cholerae*, están ampliamente asociados con intoxicaciones alimentarias por consumo de mariscos contaminados y pueden provocar cuadros graves de gastroenteritis e incluso septicemia en personas inmunocomprometidas (Zeidler et al., 2024; Alaboudi et al., 2016).

Otra bacteria de interés es *Clostridium difficile*, que se ha detectado en productos marinos y puede representar un riesgo de infecciones intestinales graves, especialmente en personas hospitalizadas o en tratamiento con antibióticos (Metcalf et al., 2011). Asimismo, *Aeromonas hydrophila*, una bacteria oportunista presente en ambientes acuáticos, puede causar infecciones en heridas, gastroenteritis e incluso enfermedades sistémicas en individuos con sistemas inmunológicos debilitados (Park et al., 2021).

Por su parte, *Salmonella* spp., un agente bacteriano de gran importancia en seguridad alimentaria, ha sido detectada en productos marinos de distintas regiones del mundo. En Egipto, se ha reportado su presencia en pescado y mariscos comercializados en mercados locales, con una prevalencia aproximada del 9.8% (Bakr et al., 2013). De manera similar, en Filipinas se detectó *Salmonella* spp. en recursos pesqueros cultivados en la Bahía de Manila, con una prevalencia cercana al 13,58% (Tanyag et al., 2021). En países árabes, se documentó una prevalencia del 22,9% en productos marinos (Habib et al., 2021). En México, se ha identificado *S. enterica* en camarones y pulpo destinados al consumo humano, con prevalencias del 56 % y 45 %, respectivamente, lo que evidencia la posibilidad

de contaminación a lo largo de la cadena de producción y comercialización (Torres et al., 2022). Su transmisión ocurre generalmente por el consumo de productos crudos o mal cocidos, y sus síntomas incluyen fiebre, diarrea y dolor abdominal (Prabhakar et al., 2020).

Finalmente, *Morganella morganii* ha sido ampliamente reconocida como una de las principales bacterias formadoras de histamina en productos marinos. Su proliferación en pescados y mariscos inadecuadamente refrigerados o almacenados durante periodos prolongados puede desencadenar intoxicaciones histamínicas, una reacción adversa que produce síntomas semejantes a una alergia alimentaria, incluyendo enrojecimiento facial, urticaria, cefalea, náuseas y problemas gastrointestinales (Bjornsdottir-Butler et al., 2015; Kim et al., 2000; Frith et al., 2023).

Diversos estudios han demostrado la presencia de *Morganella morganii* en productos marinos como peces, cefalópodos y crustáceos. En particular, su detección en camarones ha cobrado especial relevancia, ya que este producto suele almacenarse en condiciones que favorecen el crecimiento bacteriano si no se mantiene una cadena de frío adecuada (Visciano, Schirone & Paparella, 2020). Investigaciones realizadas en el Golfo de México y zonas costeras cercanas han identificado *Morganella* entre las bacterias productoras de histamina, y muestran que la abundancia y composición de estas bacterias están fuertemente influenciadas por variables ambientales y de manejo (Bjornsdottir-Butler, Bowers & Benner, 2015; Frith et al., 2023).

Dado el impacto potencial de estas bacterias en la salud pública, es fundamental implementar buenas prácticas de manejo, almacenamiento y procesamiento de productos marinos, así como reforzar la vigilancia microbiológica en la industria pesquera para reducir riesgos y garantizar la inocuidad alimentaria

4.3. *Morganella Morganii*

4.3.1. Identificación y establecimiento de *Morganella morganii* como agente etiológico

En 1905, Castellani identificó una bacteria aislada de un paciente con una enfermedad febril similar a la fiebre tifoidea, a la que denominó *Bacterium columbense* (Castellani, 1914). Posteriormente, en 1906, Morgan investigaba la etiología de la diarrea infantil estival y

describió un organismo bacteriano que no fermentaba lactosa. Este microorganismo fue identificado en 28 de los 58 casos que examinó y se diferenciaba de *Bacillus dysenteriae*, considerado en ese entonces como la causa de la enfermedad pediátrica prevalente en países como Alemania, Filipinas y Estados Unidos (Morgan, 1906). A este organismo diferente se le denominó posteriormente “Bacilo de Morgan”, y fue nombrado oficialmente *Bacillus morganii* por Winslow y colaboradores en 1919 (Winslow et al., 1919).

En 1936, Rauss llevó a cabo experimentos en los que evidenció un fenómeno de propagación que denominó *emanación*, relacionando estas bacterias con el género *Proteus*, al que nombró *Proteus morganii* (Rauss, 1936). En 1943, Fulton demostró que la bacteria denominada anteriormente *Bacterium columbense* por Castellani era, en realidad, idéntica al organismo conocido como *Proteus morganii* descrito por Winslow en 1919. Fulton propuso entonces que estas cepas fueran reclasificadas bajo el género *Morganella*, estas bacterias no fermentaban lactosa ni sacarosa, pero sí producían indol. El género *Morganella* incluiría dos especies: *Morganella morganii* y *Morganella columbensis*. (Fulton, 1943).

En 1962, Ewing reidentificó el aislado de *Bacterium columbense* descrito por Castellani como *Escherichia coli*, lo que excluyó a este organismo del género *Morganella* donde había sido clasificado por Fulton en 1943. Esto llevó a que *Morganella morganii* quedara como la única especie válida dentro del género *Morganella*, aunque la especie *morganii* fue relegada nuevamente al género *Proteus* durante los siguientes 16 años (Ewing, 1962).

A partir de 1976, se descubrió que la fermentación de trehalosa permitía dividir el género *Morganella* en múltiples biogrupos (Siboni, 1978). Estudios posteriores confirmaron la reasignación de *P. morganii* al género *Morganella*, gracias a la identificación de un mayor contenido de guanina y citosina en el ADN de estas bacterias en comparación con otros representantes de la tribu *Proteae* (Brenner et al., 1978). En 1980, el nombre de la especie *Morganella morganii* fue oficialmente aceptado en la lista de nombres bacterianos aprobados, ganando amplia aceptación en la comunidad científica (Skerman et al., 1980).

Con base en los resultados de la hibridación de ADN y estudios fenotípicos detallados, Jensen y colaboradores (1992) propusieron dividir la especie *Morganella morganii* en dos subespecies: *Morganella morganii subsp. morganii*, que incluye cuatro biogrupos (A, B, C,

D) y *Morganella morganii* subsp. *sibonii*, que comprende tres biogrupos (E, F, G). Finalmente, Emborg y colaboradores (2006) identificaron una nueva especie dentro del género, denominada *M. psychotolerans*.

4.3.2. Taxonomía del género *Morganella*

Actualmente el género *Morganella* pertenece a la clase Gammaproteobacterias, orden Enterobacterales, familia Enterobacterias e incluye dos especies; *Morganella Morganii* y *Morganella psychrotolerans* (Emborg et al., 2006). *Morganella morganii* se divide en dos subespecies, *Morganella morganii* subsp. *morganii* y *Morganella morganii* subsp. *sibonii* diferenciadas mediante análisis genotípicos y fenotípicos. (Brenner et al., 1978; Skerman et al., 1980; Jensen et al., 1992).

4.3.3. Características del género *Morganella*

Morganella morganii es una bacteria que pertenece al grupo de bacterias entéricas, es decir, aquellas asociadas al tracto gastrointestinal (Zarić et al., 2021). Es un bacilo gramnegativo con una longitud de 1,0 a 1,7 µm y una anchura de 0,6 a 0,7 µm. La mayoría de las cepas son móviles mediante ciliación periciliar; sin embargo, a diferencia de los bastones del género *Proteus*, estas bacterias no muestran un crecimiento nebuloso. No son esporulados ni encapsulantes. Son relativamente anaerobios y no producen citocromo oxidasa. Son catalasa positiva e indol positivo. Se clasifican como quimioorganotrofos y exhiben metabolismo fermentativo. Fermentan la glucosa para producir ácido y gas, manosa y no fermentan la lactosa. Producen ureasa y fenilalanina desaminasa. La mayoría de las cepas producen ornitina descarboxilasa, pero no producen H₂S. No producen lipasa, arginina dihidrolasa ni ADNasa, y no descomponen el acetato ni el citrato. (Zalas-Więcek et al., 2012). Puede crecer en un amplio rango de temperatura (4° a 35°C) pero la temperatura óptima es 25°C (Kim et al., 2000). Según Liu et al. (2016) el tamaño del genoma de *M. morganii* es de 4,127,528 pb con un contenido de G+C del 51%.

4.3.4. Hábitat

Morganella morganii, suele estar presente en los ambientes húmedos y ricos en materia orgánica, como el tracto intestinal de humanos y animales, donde forma parte de la

microbiota (De et al., 2016). Se ha aislado también de ambientes acuáticos, suelos contaminados con materia orgánica (Guzmán et al., 2020) y mayormente de productos marinos: calamar morado (*Dosidicus gigas*), camarón patiblanco (*Litopenaeus vannamei*) (Moreno, 2019) y atún de aleta amarilla (*Thunnus albacares*) (Huang et al., 2022).

4.3.5. Factores de patogenicidad y virulencia

Morganella morganii es una bacteria con potencial para causar enfermedades en humanos especialmente en pacientes inmunocomprometidos o con hospitalizaciones prolongadas (Zarić et al., 2021). La secuencia del genoma reveló que los factores de virulencia de *Morganella morganii* incluyen adhesinas fimbriales, Lipopolisacaridos (LPS), proteasa IgA, hemolisinas, ureasas, y toxinas insecticidas y apoptóticas. Entre ellos, las adhesinas fimbriales, las ureasas desempeñan un papel importante en la colonización y patogenicidad de *Morganella morganii* (Liu et al., 2016).

La *histidina descarboxilasa* es una enzima clave producida por algunas cepas de *M. morganii*, la cual cataliza la descarboxilación del aminoácido histidina para formar histamina, una amina biógena que se puede producir durante la manipulación del pescado debido a la presencia de bacterias que deterioran el producto, el consumo de productos marinos que contienen histamina en concentraciones superiores a 500 ppm ocasionan intoxicación por histamina y es la causa más común de enfermedades transmitidas por alimentos en humanos debido al consumo de productos marinos (Trevisani et al., 2021).

La ureasa, cataliza la hidrólisis de la urea en amoníaco y dióxido de carbono, lo cual provoca el aumento del pH de la orina humana, facilitando la formación de precipitados de iones polivalentes que normalmente son solubles, como en estruvita y apatita de carbonato. Estos compuestos se agrupan en torno a las bacterias y contribuyen a la formación de cálculos en el tracto urinario (Konieczna et al., 2012).

Las proteasas representan un importante factor de virulencia en *Morganella morganii*, ya que contribuyen directamente a su capacidad de colonizar, invadir y persistir en el hospedero. Estas enzimas participan en la degradación de proteínas del huésped, como componentes de la matriz extracelular, proteínas de señalización y anticuerpos, lo que facilita la diseminación bacteriana y la evasión del sistema inmunitario. En el análisis

genómico realizado por Behera et al. (2023), se identificaron diversos genes que codifican proteasas, entre ellos una metaloproteasa y una proteasa de inmunoglobulina A (IgA). Esta última ha sido ampliamente reconocida por su capacidad para degradar la IgA, un anticuerpo esencial en las mucosas intestinales, respiratorias y urinarias, cuya función principal es impedir la adhesión bacteriana a los epitelios (Chen et al., 2012). La expresión de una IgA proteasa en *Morganella morganii* sugiere que esta especie podría neutralizar dicha barrera inmunitaria local, favoreciendo su adherencia a los tejidos y su persistencia en el organismo. Aunque la función específica de estas proteasas en *Morganella morganii* aún requiere validación experimental, la evidencia genómica disponible respalda su papel potencial como mecanismos centrales de virulencia y adaptación en esta bacteria oportunista (Behera et al., 2023).

Morganella morganii presenta un mecanismo de adherencia que está mediado por unas estructuras denominadas fimbrias o pilis. Gracias a estas, la bacteria contacta con la superficie de la célula huésped y en el extremo se ubican las adhesinas, que son proteínas que juegan un papel muy importante en el inicio de la infección, pues se adhieren a un receptor de la célula huésped constituido por residuos de hidratos de carbono de glucoproteínas o glucolípidos. Esto ocurre en dos pasos: el primer paso consiste en que la interacción se realiza mediante la fimbria, y en el segundo paso ocurre una unión más intensa en la que, intervienen las adhesinas afimbriadas, proteínas localizadas en la membrana externa (Vila et al., 2008).

Los lipopolisacáridos (LPS) de *Morganella morganii* son componentes esenciales de su membrana externa y constituyen un factor de virulencia clave, ya que participan en la interacción con el sistema inmunitario del hospedador y en la resistencia frente a agentes antimicrobianos (Liu, 2016). Como en otras bacterias gramnegativas, los LPS se componen de una porción lipídica A, que ancla la molécula a la membrana, y una cadena polisacárida O, que se proyecta hacia el entorno extracelular (Raetz & Whitfield, 2002).

Esta estructura confiere estabilidad a la envoltura celular y protege a la bacteria de la acción del complemento y de moléculas antimicrobianas. La fracción lipídica A es reconocida por los receptores tipo Toll, principalmente TLR4, lo que desencadena respuestas inflamatorias en el hospedador; sin embargo, *Morganella morganii* puede modular dicha respuesta mediante modificaciones estructurales del LPS, favoreciendo su persistencia en el

organismo (Needham et al., 2013). Además, se ha observado que los LPS contribuyen a la formación de biofilm, promoviendo la adhesión a superficies y aumentando la resistencia a antibióticos, lo cual facilita la colonización en ambientes clínicos y dispositivos médicos (Nakao et al., 2012). Estos factores trabajan en conjunto para permitir que *Morganella morganii*, sobreviva a entornos hostiles y cause infecciones en hospederos como el ser humano.

4.3.6. Manifestaciones clínicas y determinantes predisponentes en infecciones por *Morganella morganii*

M. morganii es capaz de producir infecciones en el ser humano en diferentes regiones anatómicas y en cada una de ellas se presentan a través de diferente sintomatología.

Tabla 1. Principales Infecciones causadas por *Morganella morganii*.

Tipo de infección	Signos y síntomas	Referencia
Tracto urinario	• Disuria (dolor al orinar) • Urgencia y frecuencia urinaria • Orina turbia o con mal olor • Fiebre en casos severos	Moya et al., 2001
Infecciones intraabdominales	• Dolor abdominal intenso • Náuseas • Vómitos • Fiebre	Moya et al., 2001
Piel y tejidos blandos	• Enrojecimiento • Hinchazón • Calor en la zona afectada • Secreción purulenta y dolor localizado • En casos graves: celulitis o gangrena	Kim et al., 2007

Septicemia (infección en sangre)	• Fiebre alta • Taquicardia • Hipotensión • Confusión o letargo	Kim et al., 2007
Infecciones respiratorias	• Fiebre y escalofríos • Dificultad para respirar • Taquicardia • Hipoxemia	Carmona et al., 1992

4.3.7. Implicaciones de la producción de histamina por *M. morganii* en camarones: un riesgo para la inocuidad alimentaria

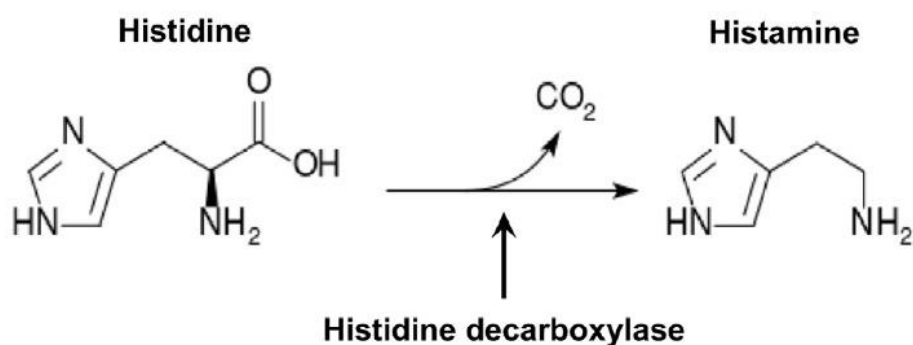
La intoxicación por histamina, también conocida como escombroidosis, es una toxiinfección alimentaria que ocurre cuando se ingieren alimentos con niveles elevados de histamina, siendo los más comunes los pescados y mariscos (Tortorella et al., 2014). Esta condición representa un problema relevante para la seguridad alimentaria y afecta a múltiples regiones del mundo.

A nivel global, la frecuencia de la intoxicación por histamina varía considerablemente según el consumo de pescado en cada país. Aunque se considera una condición distribuida mundialmente, su incidencia exacta es incierta (De Cerio et al., 2016). Sin embargo, se han reportado tasas estimadas de 2 a 5 casos por millón de habitantes al año en Dinamarca, Nueva Zelanda, Francia y Finlandia, mientras que en Hawái asciende a 31 casos por millón. Japón, Reino Unido, Estados Unidos y Australia se encuentran entre los países con más casos, y en Estados Unidos y Europa la intoxicación por histamina representa hasta el 40% de los brotes de toxiinfección alimentaria (De Cerio et al., 2016).

La histamina, de forma natural, es una amina biógena producida por el cuerpo humano y participa en procesos fisiológicos generales como vasodilatación, secreción de ácido gástrico y respuestas anafilácticas. No obstante, se vuelve un riesgo para la salud pública cuando se ingieren cantidades exógenas, especialmente cuando alcanzan niveles cercanos o superiores a 500 ppm, pudiendo atravesar la barrera gastrointestinal y causar intoxicación (Taylor y Eitenmiller, 1986; Trevisani et al., 2021).

En los alimentos, la histamina se genera por la descarboxilación del aminoácido L-histidina, reacción catalizada por la enzima histidina descarboxilasa (HDC) (Figura 1). Esta transformación química se produce en presencia de bacterias capaces de sintetizar dicha enzima (Lee et al., 2020). De manera más específica, las bacterias formadoras de histamina (HFB), entre las que se encuentran diversas gramnegativas como *M. morganii*, poseen el gen *hdc*, responsable de codificar la HDC (DeBeer et al., 2021).

Figura 1. Síntesis de histamina



Nota. La imagen representa la síntesis de histamina por medio de la descarboxilación del aminoácido L-Histidina por acción de la histidina descarboxilasa sintetizada por HFB (Bacterias Formadoras de Histamina).

La acumulación de histamina en el pescado depende tanto del contenido de histidina libre como de la actividad enzimática bacteriana. Por ello, la intoxicación se asocia principalmente al consumo de peces de las familias Scombridae y Scomberesocidae (atún, caballa, bonito, jurel), aunque también se presenta en sardinas, anchoas, arenque, marlín y aleta azul (Hungerford, 2010). La probabilidad de que los niveles de histamina superen los límites microbiológicos permitidos está directamente relacionada con el número y la actividad de las HFB presentes.

Los síntomas de la intoxicación pueden aparecer entre 5 minutos y varias horas después de la ingestión (Ohnuma et al., 2001). Estos van desde reacciones cutáneas leves hasta alteraciones respiratorias y cardiovasculares severas, como broncoespasmo, hipotensión, dificultad respiratoria, infarto de miocardio o disfunción cardíaca resistente al tratamiento (Feng, Teuber & Gershwin, 2016). En casos documentados, como el estudio realizado en 2008 con 46 pacientes intoxicados, se observaron manifestaciones dermatológicas en

82,2%, gastrointestinales en 37%, neurológicas en 34,7%, respiratorias en 17,4%, generales en 4,3% y cardiovasculares en 37,8% de los afectados (Lavon et al., 2008).

4.4. Técnicas de identificación bacteriana

4.4.1. Pruebas bioquímicas

Las técnicas bioquímicas para la identificación bacteriana se basan en la detección de reacciones metabólicas específicas que permiten diferenciar microorganismos. Entre las más utilizadas se encuentran las pruebas de fermentación de azúcares, la producción de enzimas (como catalasa, oxidasa y ureasa) y el uso de medios selectivos y diferenciales. Estas técnicas han sido ampliamente empleadas debido a su bajo costo y facilidad de uso en laboratorios de microbiología clínica y ambiental (Bhattacharyya, 2023). Sin embargo, presentan ciertas desventajas, como la menor sensibilidad y precisión comparadas con métodos moleculares, lo que puede retrasar la obtención de resultados y generar errores en la identificación de especies estrechamente relacionadas (Janda & Abbott, 2007).

Además, su precisión depende de la interpretación subjetiva de los resultados, lo que puede generar errores en la identificación de especies estrechamente relacionadas (Forbes, Sahm, & Weissfeld, 2007). En comparación con métodos moleculares y espectrométricos, las pruebas bioquímicas son menos sensibles y específicas, lo que limita su aplicación en casos donde se requiere una identificación rápida y precisa. (Patel, 2015).

4.4.2. Pruebas serológicas

Las pruebas serológicas permiten detectar antígenos específicos de patógenos alimentarios o los anticuerpos generados en respuesta a ellos. Las más utilizadas son los siguientes:

Aglutinación en lámina: Esta técnica se basa en la interacción entre anticuerpos específicos y antígenos bacterianos presentes en la muestra, lo que provoca la formación de agregados visibles (aglutinación). Ha sido utilizada para la identificación de *Escherichia coli* mediante antiseros polivalentes y monovalentes (Lugo et al., 2006).

Enzimoinmunoensayo (ELISA): Este método emplea anticuerpos enlazados a enzimas para detectar la presencia de antígenos bacterianos específicos en una muestra, generando una señal cuantificable. Se ha utilizado para la detección de patógenos como *L. monocytogenes* en muestras de alimentos. Esta técnica ofrece alta sensibilidad y especificidad en la identificación de estos microorganismos (Alonso Muñiz, 2018).

Las pruebas serológicas pueden ser útiles para detectar bacterias en alimentos, pero su alto costo, el tiempo prolongado de procesamiento (horas, días) y su menor sensibilidad en comparación con técnicas moleculares hacen que no sean la mejor opción en muchas situaciones. Métodos como la PCR o la espectrometría de masas ofrecen una identificación más rápida, precisa y rentable en el control de calidad alimentario (Waliullah et al., 2019).

4.4.3. MALDI-TOF MS

Durante la última década, la espectrometría de masas MALDI-TOF MS (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight*) se ha consolidado como una plataforma de referencia para el diagnóstico microbiológico, sustituyendo progresivamente a metodologías convencionales como las pruebas fenotípicas, la identificación bioquímica y los ensayos de aglutinación. Esta transición se debe a su elevada capacidad de discriminación taxonómica, robustez analítica, alta reproducibilidad y tiempos de respuesta significativamente reducidos (Clark et al., 2013).

En la actualidad, MALDI-TOF MS se emplea de manera rutinaria para la identificación de bacterias, micobacterias y diversas especies fúngicas; más recientemente, su uso se ha extendido al ámbito de la investigación para la detección y caracterización de virus, así como de protozoos y artrópodos de interés sanitario (Feucherolles et al., 2019). Su principio se basa en la ionización asistida por matriz y el análisis del tiempo de vuelo de los iones en un espectrómetro de masas (Nomura, 2014).

El proceso se puede describir de la siguiente manera: se transfiere una colonia a una placa de muestra, la cual luego será sometida a irradiación láser. Después de añadir la matriz y secar la muestra, se coloca la placa en el espectrómetro de masas (MS). Posteriormente, la placa se irradia con láser, ionizando las proteínas bacterianas (principalmente las ribosómicas); el tiempo que tardan las proteínas ionizadas en llegar al detector permite

determinar la relación masa-carga (m/z) de las proteínas presentes, y la intensidad de la señal genera el espectro de masas (patrón) (Feucherolles et al., 2019).

La matriz principal utilizada para la identificación bacteriana es el ácido α -ciano-4-hidroxicinámico (CHCA), que absorbe eficazmente la energía del láser, facilita la ionización de la muestra proporcionando protones y previene la descomposición de la muestra (Tsuchida et al., 2020).

Los perfiles espectrales obtenidos se procesan computacionalmente y se comparan con bibliotecas de referencia comerciales, permitiendo la asignación taxonómica rápida y precisa del microorganismo analizado. La fiabilidad de la identificación se expresa mediante valores de puntuación que reflejan el grado de concordancia entre el espectro experimental y la base de datos (Feucherolles et al., 2019).

La espectrometría de masas MALDI-TOF puede reducir el tiempo de identificación a alrededor de un día. Así, esta técnica permite identificar microorganismos de manera más temprana, lo que puede resultar en una respuesta clínica más rápida, incluyendo una intervención temprana con terapia empírica. Utilizar una colonia fresca para las pruebas de diagnóstico mejora las posibilidades de una identificación precisa (Tsuchida et al., 2020).

MALDI-TOF ha revolucionado la microbiología clínica y alimentaria al permitir la identificación rápida y precisa de microorganismos sin necesidad de procesos largos de cultivo.

4.4.4. Secuenciación gen ARNr 16s

La reacción en cadena de la polimerasa del gen 16S (PCR del 16S) es una técnica ampliamente utilizada en microbiología para la identificación, clasificación y análisis filogenético de bacterias y arqueas mediante la amplificación de la región del ARN ribosómico 16S (ARNr 16S), un gen altamente conservado en los procariotas. En la década de 1970, Carl Woese propuso su uso como un cronómetro molecular para el estudio de la evolución bacteriana (Del Rosario Rodicio & Del Carmen Mendoza, 2004), lo que permitió la división de los organismos celulares en tres dominios: Bacteria, Archaea y Eukarya (Woese et al., 1990).

Desde entonces, la secuenciación del ARNr gen 16S se ha convertido en una herramienta fundamental para la identificación de especies bacterianas, particularmente en muestras ambientales, clínicas y alimentarias, ya que permite detectar microorganismos sin necesidad de cultivo. La técnica de PCR del gen 16S se basa en la amplificación de fragmentos del gen utilizando primers universales dirigidos a regiones conservadas, seguida de su secuenciación y comparación con bases de datos como NCBI, SILVA y RDP, facilitando así una identificación rápida y precisa (Woo et al., 2008)

Aunque la PCR del 16S es una técnica relativamente accesible en laboratorios de microbiología, su costo varía según el método de secuenciación empleado. Por ejemplo, una reacción de PCR convencional puede costar entre \$180.00 MXN para instituciones públicas y \$240.00 MXN para instituciones privadas (RAI, UNAM, 2025), mientras que la secuenciación Sanger oscila entre \$7 y \$10 USD por muestra, dependiendo del tipo de edición y formato (Cinvestav-Langebio, 2025).

A pesar de su gran utilidad, la PCR del 16S presenta algunas limitaciones, como la incapacidad de diferenciar ciertas especies con secuencias altamente similares y la falta de información sobre genes de virulencia o resistencia a antibióticos, por lo que en estudios clínicos suele complementarse con técnicas como la PCR en tiempo real (qPCR), MALDI-TOF MS o secuenciación de genomas completos (WGS) (Ramos et al., 2025).

5. Justificación

El uso de herramientas biotecnológicas avanzadas se ha convertido en un elemento clave para fortalecer la vigilancia microbiológica en la cadena de producción de productos marinos. Debido a la elevada susceptibilidad de estos alimentos al deterioro microbiano y a la formación de compuestos tóxicos como la histamina, resulta indispensable contar con metodologías capaces de detectar, identificar y caracterizar de manera precisa a los microorganismos involucrados en estos procesos. En este contexto, tecnologías como la espectrometría de masas MALDI-TOF y la PCR dirigida al gen *hdc* representan una plataforma diagnóstica de alta resolución, que supera las limitaciones de los métodos convencionales al ofrecer rapidez, sensibilidad y especificidad en la identificación de bacterias con relevancia sanitaria. Su aplicación combinada permite no solo confirmar la presencia de *Morganella morganii*, sino también evaluar su potencial histaminogénico mediante la detección de marcadores genéticos asociados a la producción de histamina. Esto es particularmente relevante, ya que *M. morganii* es una de las especies involucradas en la síntesis de este compuesto biogénico y puede proliferar en productos marinos cuando existen deficiencias en la refrigeración o almacenamiento. Por lo que la implementación de estas herramientas biotecnológicas aporta un valor estratégico para la inocuidad alimentaria al permitir una caracterización precisa de cepas productoras de histamina, lo cual contribuye a la comprensión de su papel en los procesos de contaminación. Este enfoque posibilita fortalecer los sistemas de monitoreo microbiológico, mejorar la capacidad diagnóstica de los laboratorios y generar evidencia científica que apoye la toma de decisiones en materia de control sanitario. Por ello, la aplicación de MALDI-TOF y PCR en el presente estudio se justifica como un paso necesario para avanzar hacia métodos de vigilancia más eficaces y tecnológicamente sustentados dentro del sector pesquero en México.

6. HIPÓTESIS

Las herramientas biotecnológicas basadas en espectrometría de masas MALDI-TOF y PCR específica para el gen *hdc* permiten identificar de manera rápida, precisa y confiable cepas de *Morganella morganii* presentes en camarón, así como determinar su potencial histaminogénico.

7. Objetivo general

Identificar cepas de *Morganella morganii* aisladas de camarones mediante las técnicas biotecnológicas, como MALDI-TOF y determinar la presencia del gen *hdc* mediante PCR, con el fin de evaluar su potencial histaminogénico.

7.1. Objetivos específicos

Aislar y purificar bacterias presentes en muestras de camarón (*Litopenaeus vannamei*) mediante métodos microbiológicos convencionales.

Identificar las cepas bacterianas aisladas mediante espectrometría de masas MALDI-TOF, con el fin de confirmar la presencia de *Morganella morganii*.

Detectar y evaluar la presencia del gen *hdc* en aislados de *Morganella morganii* mediante la técnica de PCR, con el propósito de determinar su posible asociación con la producción de histamina.

8. Material y métodos

8.1. Origen de los aislamientos

El estudio se desarrolló mediante un muestreo no probabilístico, correspondiente a la modalidad por conveniencia, de acuerdo con lo descrito por Otzen y Manterola (2017). La selección de este tipo de muestreo se basó a la accesibilidad geográfica de los puntos de venta, la disponibilidad para la recolección de las muestras y las condiciones logísticas que favorecieron la obtención del material biológico. Además, se consideró que los establecimientos representaban las condiciones más comunes de comercialización de camarón en la zona de Tulancingo de Bravo, Hidalgo, lo que permitió obtener información relevante para los objetivos de la investigación.

El muestreo se realizó en tres etapas, con el objetivo de abarcar distintos tipos de establecimientos dedicados a la venta de productos marinos en el municipio de Tulancingo de Bravo, Hidalgo. En la primera etapa, se recolectaron muestras en pescaderías ubicadas dentro y en los alrededores del mercado municipal.

La segunda etapa incluyó el muestreo en puestos temporales del tianguis local, instalado en la zona urbana del municipio. Finalmente, en la tercera etapa, se obtuvieron muestras en tiendas comerciales y supermercados que ofrecen camarón como producto fresco o congelado. En total se contemplaron 16 establecimientos o puntos de venta del municipio de Tulancingo.

8.2. Recolección de la muestra

Las muestras fueron tomadas por conveniencia y fueron depositadas en bolsas Ziploc® estériles (APHA, 2015). Posteriormente fueron marcadas con el nombre del lugar de procedencia y un número asignado para hacer más fácil el manejo (ISO 7218, 2007).

Posteriormente, las muestras se colocaron en hielera a una temperatura aproximada de 4º C para su traslado al Laboratorio de Genética, Genómica Investigación del Área académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. El transporte se realizó siguiendo los

lineamientos establecidos por la NOM-210-SSA1-2014 y las recomendaciones de inocuidad de la FAO (2019) para productos acuícolas.

8.3. Aislamiento bacteriológico

Se efectuó bajo condiciones controladas siguiendo los lineamientos de la NOM-210-SSA1-2014, normativa aplicable para la detección e identificación de microorganismos patógenos en alimentos y agua.

En el laboratorio, de cada punto de muestreo se tomó una porción de 1 g, la cual se depositó en un tubo de ensayo con 9 mL de agua peptonada al 1% en una proporción 1:9 de muestra/caldo (OMS, 2005). Las muestras fueron incubadas a 37 °C durante 24 ± 2 h. Posteriormente, se homogenizó cada tubo y se sembró por estría sobre agar MacConkey fueron incubadas a 37 °C durante 24 ± 2 h. La identificación presuntiva de *Morganella morganii* se realizó en agar MacConkey, un medio que permite discriminar bacterias Gram negativas con base en su capacidad de fermentar lactosa. En este medio, *M. morganii* se desarrolla formando colonias incoloras, translúcidas o ligeramente beige, debido a su incapacidad para fermentar lactosa. Esta característica resulta fundamental para diferenciarla de otros bacilos entéricos, como *Escherichia coli* o *Klebsiella* spp., los cuales producen colonias de tonalidad rosada por su actividad fermentativa (Cappuccino & Sherman, 2014).

Las colonias con las características descritas fueron seleccionadas y conservadas a -20 °C en crioviales con caldo soya tripticasa (Difco, BD) suplementado con 10% de glicerol, conforme a los métodos descritos por la Food and Agriculture Organization (FAO, 2011) para la preservación de cepas bacterianas, hasta su caracterización.

8.4. Activación de bacterias

Para la activación de los aislamientos bacterianos, cada una de las colonias preservadas fue sembrada en placas de agar Mueller–Hinton empleando técnicas asépticas. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h, con el fin de obtener cultivos frescos y metabólicamente activos, para su posterior identificación mediante MALDI-TOF MS (Winn et al., 2020).

8.5. Identificación de Bacterias en MALDI-TOF MS

Las colonias puras fueron analizadas en el Laboratorio de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de México, por medio de un equipo MALDI-TOF AutoBio MS 1000. Para ello, con ayuda de un aplicador estéril se colocó una pequeña cantidad de cada colonia directamente en una placa diana MALDI y se dejó secar a temperatura ambiente. A continuación, se añadió 1 µL de la matriz HCCA (ácido α -ciano-4-hidroxicinámico) a la placa diana MALDI y también se dejó secar a temperatura ambiente (Clark et al., 2013; Patel, 2015).

Una vez seca, la placa se inserta en el AutoBio MS 1000. Para la adquisición del espectro, el sistema utilizó un láser (nitrógeno 337 nm) para ionizar los péptidos/proteínas (principalmente ribosomales) del microorganismo, se generó un espectro de masas específico para esa cepa bacteriana (Bizzini & Greub, 2010; Clark et al., 2013).

El análisis se realizó por medio del software Autof Database, el cual analizó el espectro obtenido y lo comparó con una base de datos interna de perfiles conocidos. Posteriormente el sistema arrojó la identificación basada en score o nivel de coincidencia de acuerdo a los siguientes intervalos: Score 9.5-10.0: Identificación confiable a nivel especie y subespecie, Score 9.0-9.5: Identificación confiable a nivel especie, Score 6.0-9.0: Identificación confiable a nivel género, Score 0.0-6.0: No confiable. Finalmente, el software (Autof Database) generó un reporte con el score obtenido y posibles coincidencias secundarias (Autobio Diagnostics, 2021).

8.6. Extracción de ADN para identificar el gen *hdc*

Una vez identificadas las bacterias se continuó con la extracción de ADN para lo cual se utilizó la técnica de choque térmico. En un tubo Eppendorf® de 1.5 mL y con la ayuda de un asa bacteriológica se resuspendieron las colonias en 250 µL de agua destilada, posteriormente se mezclaron con ayuda de un vortex y cada tubo se llevó a la centrífuga a 14,500 rpm por 5 minutos, el sobrenadante fue desechado y se agregaron 300 µL de agua destilada al pellet celular, posteriormente se agitaron en vortex para continuar con el choque térmico, este fue llevado a cabo en un termoblock a una temperatura de 100°C por 10 minutos y después en un congelador a - 4°C por 10 minutos, el procedimiento se repitió por

triplicado. Posteriormente, los tubos se llevaron a la centrífuga a 14,500 rpm por 5 minutos, finalmente del sobrenadante se extrajeron 250 μ L de ADN, el cual se almaceno en el congelador a -4°C para después realizar la cuantificación (Reyes-Rodríguez et al., 2015).

8.7. Cuantificación de ADN

La cuantificación de ADN se realizó por espectrofotometría con un espectrofotómetro de microvolumen NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, versión de software 3.8), se colocaron 2 μ L de blanco (agua destilada) y posteriormente se comenzó con las lecturas colocando 2 μ L de ADN. El principio de funcionamiento del espectrofotómetro se basa en la absorción diferencial de luz ultravioleta por las bases nitrogenadas, principalmente a una longitud de onda de 260 nm, mientras que las proteínas y fenoles presentan picos de absorción cercanos a 280 nm y los compuestos orgánicos o sales lo hacen alrededor de 230 nm. (Desjardins & Conklin, 2010). El equipo calcula automáticamente la concentración de ADN (ng/ μ L) y los índices de pureza, definidos por las relaciones A260/A280 y A260/A230. La relación A260/A280 es un indicador del grado de contaminación por proteínas, siendo considerados valores entre 1.8 y 2.0 como representativos de ADN puro. Por su parte, la relación A260/A230 evalúa la presencia de contaminantes orgánicos o sales, aceptándose valores entre 2.0 y 2.2 como indicativos de buena calidad (Gallagher, 2011). Muestras con relaciones fuera de estos rangos se consideraron de baja pureza y, en caso necesario, se repitió el proceso de extracción.

8.8. PCR del gen *hdc*

La PCR en punto final se realizó siguiendo el protocolo descrito por Klanian (2018). Se realizó en un volumen final de 25 μ L, conteniendo 2 μ L de ADN molde, PCR buffer 25 mM de MgCl₂, 10X (500 mM de KCl and Tris HCl (pH 8.4)), 10M de cada iniciador, 02mM de dNTPs y 1 UI Go Taq DNA polimerasa. Las condiciones de la reacción de PCR fueron las siguientes: Una desnaturalización inicial de 95 °C por 5 minutos, posteriormente 25 ciclos de desnaturalización a 96 °C por 45 segundos, alineación a 54 °C por 1 minuto, extensión a 72 °C por 1 minuto; finalmente una extensión final de 72°C por 10 minutos.

8.9. Electroforesis

Se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1.5% para visualizar los resultados de la PCR. En 100 mL de TBE 1X se añadieron 1.5 g de agarosa, posteriormente se calentó la mezcla en un horno de microondas en intervalos de 15 segundos hasta que la agarosa se disolvió completamente. A continuación, se añadieron 5 µL de bromuro de etidio, y la mezcla homogénea se vertió en la cámara de electroforesis. Una vez que el gel se solidificó, se añadió TBE hasta cubrir completamente el gel, y luego se cargaron las muestras de ADN, dejando un pozo libre para el marcador de peso molecular. Posteriormente, se inició la corrida durante 90 minutos, a 400 mA y 80 V. La visualización de los productos amplificados por PCR se realizó utilizando el sistema de fotodocumentación Kodak Gel Logic 1500®. Una vez concluida la electroforesis, los geles fueron colocados sobre el transiluminador UV del equipo, seleccionando una longitud de onda de 302 nm para la excitación del colorante utilizado. La captura de imágenes se efectuó mediante el software Molecular Imaging®, ajustando el tiempo de exposición, sensibilidad y enfoque automático hasta obtener una imagen nítida y sin saturación. Las fotografías generadas se almacenaron en formato digital para su análisis.

9. Resultados y discusión

A partir de las muestras de camarón recolectadas en los 16 establecimientos del municipio de Tulancingo de Bravo, Hidalgo, se obtuvieron 181 aislamientos bacterianos, los cuales fueron activados mediante siembra en agar Mueller Hinton e incubación a 37 °C durante 24 h, con el fin de asegurar la recuperación de colonias frescas y metabólicamente estables. Este paso permitió homogenizar el estado fisiológico de los aislamientos antes de su caracterización y reducir el riesgo de variaciones asociadas a condiciones de estrés o almacenamiento.

Tras la activación, se realizó una evaluación basada en morfología y comportamiento en medios selectivos, mediante la cual se seleccionaron 59 aislamientos presuntivamente compatibles con el género *Morganella*. Estas colonias se caracterizaron por ser lisas, translúcidas y de tonalidad blanco grisácea, en concordancia con las descripciones fenotípicas reportadas por Winn et al. (2020). Este proceso de selección preliminar es esencial en microbiología clásica, ya que permite enfocar los recursos analíticos en las cepas con mayor probabilidad de coincidir con el microorganismo de interés, optimizando tiempo, insumos y análisis subsecuentes.

El número elevado de aislamientos preliminares sugiere que la microbiota asociada al camarón ofertado en los puntos de venta presenta una diversidad bacteriana significativa, posiblemente influenciada por factores como temperatura ambiental, manipulación, cadena de frío intermitente y exposición prolongada durante la venta. La selección de 59 sospechosos a partir de 181 aislamientos coincide con estudios previos que indican que *Morganella* suele encontrarse entre las enterobacterias predominantes en productos acuícolas expuestos a fluctuaciones térmicas (Kanki et al., 2007).

La identificación proteómica mediante MALDI-TOF MS confirmó que los 59 aislamientos seleccionados correspondieron a *Morganella morganii* (Tabla 2), logrando una identificación del 100 %, lo cual evidencia una correlación perfecta

entre el análisis presuntivo fenotípico y la identificación proteómica. Los valores obtenidos oscilaron entre 9.299 y 9.736, valores que representan una identificación altamente confiable, tanto a nivel de especie como de subespecie.

Tabla 2. Resultados de identificación por MALDI-TOF MS y detección del gen *hdc* mediante PCR

Origen de muestra	Identificación de cepa	Resultado	Score	Gen <i>hdc</i>
Camarón	AC2	<i>Morganella morganii</i>	9.548	Positivo
Camarón	AC3	<i>Morganella morganii</i>	9.438	Positivo
Camarón	AC9	<i>Morganella morganii</i>	9.595	Positivo
Camarón	AC21	<i>Morganella morganii</i>	9.666	Positivo
Camarón	AC22	<i>Morganella morganii</i>	9.672	Positivo
Camaron	AC26	<i>Morganella morganii</i>	9.548	Positivo
Camarón	AC28	<i>Morganella morganii</i>	9.612	Positivo
Camarón	AC30	<i>Morganella morganii</i>	9.651	Positivo
Camarón	AC31	<i>Morganella morganii</i>	9.503	Positivo
Camarón	AC33	<i>Morganella morganii</i>	9.664	Positivo
Camarón	AC57	<i>Morganella morganii</i>	9.62	Positivo

Camarón	AC63	<i>Morganella morganii</i>	9.299	Positivo
Camarón	AC64	<i>Morganella morganii</i>	9.582	Positivo
Camarón	AC72	<i>Morganella morganii</i>	9.593	Positivo
Camarón	AC73	<i>Morganella morganii</i>	9.543	Positivo
Camarón	AC74	<i>Morganella morganii</i>	9.631	Positivo
Camarón	AC82	<i>Morganella morganii</i>	9.606	Positivo
Camarón	AC93	<i>Morganella morganii</i>	9.566	Positivo
Camarón	AC94	<i>Morganella morganii</i>	9.645	Positivo
Camarón	AC99	<i>Morganella morganii</i>	9.607	Positivo
Camarón	AC100	<i>Morganella morganii</i>	9.624	Positivo
Camarón	AC101	<i>Morganella morganii</i>	9.604	Positivo
Camarón	AC102	<i>Morganella morganii</i>	9.564	Positivo
Camarón	AC111	<i>Morganella morganii</i>	9.454	Positivo
Camarón	AC112	<i>Morganella morganii</i>	9.601	Positivo
Camarón	AC115	<i>Morganella morganii</i>	9.631	Positivo

Camarón	AC118	<i>Morganella morganii</i>	9.637	Positivo
Camarón	AC119	<i>Morganella morganii</i>	9.627	Positivo
Camarón	AC120	<i>Morganella morganii</i>	9.644	Positivo
Camarón	AC122	<i>Morganella morganii</i>	9.671	Positivo
Camarón	AC127	<i>Morganella morganii</i>	9.64	Positivo
Camarón	AC128	<i>Morganella morganii</i>	9.645	Positivo
Camarón	AC132	<i>Morganella morganii</i>	9.583	Positivo
Camarón	AC133	<i>Morganella morganii</i>	9.459	Positivo
Camarón	AC136	<i>Morganella morganii</i>	9.454	Positivo
Camarón	AC142	<i>Morganella morganii</i>	9.637	Positivo
Camarón	AC143	<i>Morganella morganii</i>	9.302	Positivo
Camarón	AC144	<i>Morganella morganii</i>	9.594	Positivo
Camarón	AC146	<i>Morganella morganii</i>	9.552	Positivo
Camarón	AC155	<i>Morganella morganii</i>	9.593	Positivo
Camarón	AC162	<i>Morganella morganii</i>	9.608	Positivo

Camarón	AC164	<i>Morganella morganii</i>	9.591	Positivo
Camarón	AC165	<i>Morganella morganii</i>	9.667	Positivo
Camarón	AC174	<i>Morganella morganii</i>	9.663	Positivo
Camarón	AC176	<i>Morganella morganii</i>	9.628	Positivo
Camarón	AC177	<i>Morganella morganii</i>	9.593	Positivo
Camarón	AC199	<i>Morganella morganii</i>	9.636	Positivo
Camarón	AC200	<i>Morganella morganii</i>	9.671	Positivo
Camarón	AC201	<i>Morganella morganii</i>	9.71	Positivo
Camarón	AC202	<i>Morganella morganii</i>	9.607	Positivo
Camarón	AC203	<i>Morganella morganii</i>	9.597	Positivo
Camarón	AC206	<i>Morganella morganii</i>	9.665	Positivo
Camarón	AC225	<i>Morganella morganii</i>	9.601	Positivo
Camarón	AC230	<i>Morganella morganii</i>	9.649	Positivo
Camarón	AC248	<i>Morganella morganii</i>	9.686	Positivo
Camarón	AC249	<i>Morganella morganii</i>	9.668	Positivo

Camarón	AC250	<i>Morganella morganii</i>	9.736	Positivo
Camarón	AC252	<i>Morganella morganii</i>	9.575	Positivo
Camarón	AC256	<i>Morganella morganii</i>	9.608	Positivo

Este nivel de precisión confirma que el MALDI-TOF MS posee un alto poder discriminatorio, ya que su principio consiste en generar un patrón espectral proteico único, derivado principalmente de proteínas ribosomales, que funcionan como huella digital de la especie (Clark et al., 2013).

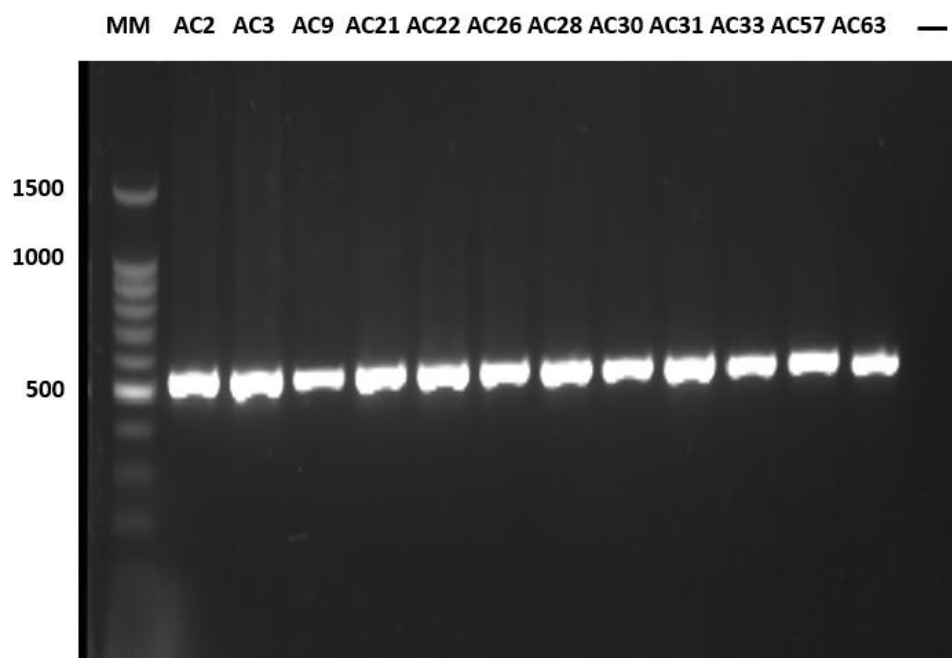
En este estudio, los espectros obtenidos mostraron una alta similitud con las entradas de la base de datos Autof MS, lo que refleja: Baja variabilidad intraespecífica entre las cepas detectadas, posible origen común o persistencia ambiental de la especie y estabilidad fenotípica y proteómica de *M. morganii* en productos de camarón.

Resultados equivalentes fueron reportados por Duque et al. (2025), quienes señalaron que MALDI-TOF MS es altamente eficaz en la diferenciación de cepas de *Morganella*, especialmente cuando se combina con análisis proteómicos avanzados. Pavlovic et al. (2013) también evidenciaron que esta tecnología reduce notablemente el tiempo de diagnóstico, siendo más rápida y confiable que paneles bioquímicos tradicionales o sistemas automatizados.

Además, Becker et al. (2020) demostraron que MALDI-TOF MS es particularmente útil en matrices marinas complejas, ya que permite discriminar en minutos entre cepas histaminogénicas y no histaminogénicas, complementando procesos de vigilancia de inocuidad. Estos estudios respaldan la utilidad de MALDI-TOF MS observada en este trabajo, reforzando su relevancia como herramienta biotecnológica para el control sanitario de productos marinos.

La identificación molecular del gen *hdc*, el cual codifica la enzima histidina descarboxilasa, mostró que los 59 aislamientos confirmados como *M. morganii* resultaron positivos, obteniendo una amplificación clara del fragmento esperado de 534 pb, como se evidencia en la Figura 2.

Figura 2. Identificación del gen *hdc* mediante PCR



Nota. Electroforesis en gel de agarosa de productos de PCR. En el carril izquierdo se observa el marcador de peso molecular (MM). Los carriles correspondientes a las muestras AC2, AC3, AC9, AC21, AC22, AC26, AC28, AC30, AC31, AC33, AC57 y AC63. El último carril corresponde al control negativo (—), en el cual no se observa amplificación, confirmando la ausencia de contaminación y la especificidad de la reacción. La amplificación del gen *hdc* de *Morganella morganii* se realizó utilizando el conjunto de cebadores específicos 106/107, que generan un amplicón de 534 pb, concordante con el tamaño observado en las muestras analizadas.

En el gel de agarosa se observa una banda definida en cada uno de los carriles correspondientes a las muestras analizadas, todas ubicadas en la región aproximada a los 534 pares de bases, que es el tamaño esperado para el producto amplificado. La presencia de estas bandas confirma la existencia del gen *hdc* en

todos los aislamientos evaluados, lo que indica que las cepas poseen el determinante genético responsable de la síntesis de histidina descarboxilasa, enzima implicada en la producción de histamina.

El patrón uniforme de las bandas sugiere que la reacción de PCR se desarrolló de manera correcta, sin evidencia de productos inespecíficos o amplificaciones secundarias. Asimismo, el marcador de peso molecular incluido en el gel permite corroborar que la migración del ADN amplificado coincide con la longitud estimada del fragmento objetivo. En conjunto, la figura demuestra la eficiencia del protocolo de amplificación utilizado y confirma que las cepas aisladas comparten un mismo perfil genético asociado con el potencial histaminogénico de *Morganella morganii*.

Estos hallazgos coinciden con los de Wongsariya et al. (2015) y Feng, Teo, & Aung (2016) quienes detectaron el mismo gen en cepas de *M. morganii* aisladas de pescado fresco y procesado.

La PCR en punto final constituye una herramienta clave en biotecnología moderna por su sensibilidad, especificidad y capacidad para detectar genes funcionales incluso en muestras con bajo contenido de ADN. En este estudio, el uso de estos iniciadores permitió amplificar selectivamente el gen *hdc* en el 100 % de las muestras, confirmando que todas las cepas identificadas comparten un perfil genético asociado con la producción de histamina. Esta uniformidad puede deberse a una fuente común de contaminación o a la persistencia de una cepa dominante en el entorno marino (Kanki et al., 2007).

La integración de MALDI-TOF MS y la PCR constituye una estrategia biotecnológica robusta que combina información fenotípica y genotípica. Diversos estudios (Pomastowski et al., 2019; Qadee et al., 2018) han demostrado que la aplicación conjunta de ambas metodologías incrementa la precisión diagnóstica y disminuye el riesgo de identificaciones erróneas. En el presente trabajo, la concordancia total entre los resultados obtenidos mediante ambas técnicas respalda su carácter

complementario: mientras que MALDI-TOF MS permite una identificación rápida a nivel de especie, la PCR confirma la presencia de genes funcionales asociados con la capacidad metabólica de las bacterias.

Asimismo, investigaciones recientes evidencian que la combinación de estas herramientas favorece una caracterización microbiana más precisa. Por ejemplo, Uehara et al. (2021) emplearon MALDI-TOF MS para identificar bacterias productoras de histamina y detectar directamente la amina tras el cultivo, mientras que Abril et al. (2024), mediante proteómica cuantitativa, demostraron diferencias en la expresión de proteínas relacionadas con la producción de aminas biógenas en bacterias marinas. De igual manera, Manukumar & Umesha (2017) observaron que la integración de enfoques moleculares y proteómicos incrementa la trazabilidad microbiana en alimentos marinos, mejorando la discriminación entre cepas filogenéticamente cercanas. En conjunto, estas evidencias refuerzan que la integración de herramientas biotecnológicas es esencial para lograr una caracterización microbiana más precisa y confiable.

La homogeneidad de los resultados entre los puntajes obtenidos mediante MALDI-TOF MS y la detección universal del gen *hdc* demuestra la solidez del enfoque metodológico aplicado (Uehara et al., 2021). Coincidiendo con el trabajo de Uehara et al. (2021), la prevalencia uniforme de *M. morganii* portadora del gen *hdc* en las muestras de camarón sugiere la presencia de condiciones ambientales que favorecen la persistencia de cepas con potencial histaminogénico.

Desde un punto de vista biotecnológico, estos resultados confirman la eficiencia de ambas metodologías como herramientas complementarias para la identificación precisa y rápida de microorganismos marinos de interés.

En conjunto, los hallazgos de este estudio resaltan la relevancia del uso combinado de tecnologías avanzadas como MALDI-TOF MS y PCR. Ambas técnicas ofrecen ventajas comparativas: rapidez, bajo requerimiento de reactivos, reproducibilidad y alta capacidad de discriminación. La implementación de este tipo de herramientas

contribuye al avance de la biotecnología aplicada al estudio de comunidades microbianas marinas y su caracterización funcional (Patel, 2015; Lozano et al., 2022).

10. Conclusión

Este estudio evidenció la eficacia de las técnicas MALDI-TOF MS y PCR como herramientas complementarias para la identificación precisa de *M. morganii* y la detección del gen *hdc* asociado a la producción de histamina en muestras de camarón. La detección del gen en todas las cepas analizadas confirma el potencial histaminogénico de la especie y resalta la utilidad de estos métodos en la caracterización molecular de bacterias de interés sanitario. El uso combinado de ambas técnicas representa un avance significativo en la vigilancia microbiológica y en la investigación aplicada, al ofrecer resultados rápidos, reproducibles y de alta resolución. Su implementación fortalece las capacidades diagnósticas en el análisis de productos marinos y contribuye al desarrollo de estrategias más precisas para el monitoreo de microorganismos con potencial toxigénico.

11. Referencias

1. Abril, A. G., Calo-Mata, P., Villa, T. G., Böhme, K., Barros-Velázquez, J., Pazos, M., & Carrera, M. (2024). High-resolution comparative and quantitative proteomics of biogenic-amine-producing bacteria and virulence factors present in seafood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(8), 4448–4463. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c06607>
2. Addgene. (2018). *Protocols — Agarose gel electrophoresis*. Addgene. <https://www.addgene.org/protocols/gel-electrophoresis/>
3. Alaboudi, A. R., Ababneh, M., Osaili, T. M., & Al Shloul, K. (2016). Detection, identification, and prevalence of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in fish and coastal environment in Jordan. *Journal of Food Science*, 81(1), M130–M134. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13151>
4. Alonso, M. A. (2018). *Métodos de detección y control de Listeria monocytogenes en la industria alimentaria* [Trabajo de fin de máster, Universidad de Oviedo]. Universidad de Oviedo.
5. Ampuero, J. M. V., Alcántara, W. R. T., Talenas, M. Á. C., & Sotil, S. A. (2018). Evaluación microbiológica de pescados y mariscos expendidos en mercados de la ciudad de Huánuco. *Investigación Valdizana*, 12(2), 75–82. <https://doi.org/10.33554/riv.12.2.142>
6. APHA. (2015). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (5th ed.). American Public Health Association.
7. Ashfaq, M. Y., Da'na, D. A., & Al-Gho uti, M. A. (2021). Application of MALDI-TOF MS for identification of environmental bacteria: A review. *Journal of Environmental Management*, 305, 114359. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.114359>
8. Autobio Diagnostics Co., Ltd. (2021). *Autof MS 1000 mass spectrometry system instruction manual*. Autobio Diagnostics.
9. Bakr, W. M., Sayed, A. M. E., Shamy, H. A. E., & Amine, A. E. (2013). Is it safe to eat raw seafood? Prevalence of *Salmonella* in some seafood products sold in Alexandria markets. *Journal of the Egyptian Public Health Association*, 88(2), 115–120. <https://doi.org/10.1097/01.epx.0000433559.22563.47>
10. Beaz-Hidalgo, R., & Figueras, M. J. (2013). *Aeromonas* spp. whole genomes and virulence factors implicated in fish disease. *Journal of Fish Diseases*, 36(4), 371–388.

11. Becker, P., Peplies, J., Wölfling, A., Scherer, S., & Wenning, M. (2020). Differentiation of histamine-producing bacteria using MALDI-TOF MS. *Food Microbiology*, 87, 103386. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103386>
12. Behera, D. U., Dixit, S., Gaur, M., Mishra, R., Sahoo, R. K., Sahoo, M., Behera, B. K., Subudhi, B. B., Bharat, S. S., & Subudhi, E. (2023). Sequencing and characterization of *M. morganii* strain UM869: A comprehensive comparative genomic analysis of virulence, antibiotic resistance, and functional pathways. *Genes*, 14(6), 1279. <https://doi.org/10.3390/genes14061279>
13. Bhattacharyya. (2023). Overview on Old and New Biochemical Test for Bacterial Identification. *Journal Of Surgical Case Reports And Images*, 6(5), 01-11. <https://doi.org/10.31579/2690-1897/163>
14. Bizzini, A., & Greub, G. (2010). Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry: A revolution in clinical microbial identification. *Clinical Microbiology and Infection*, 16(11), 1614–1619. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03311.x>
15. Bjornsdottir-Butler, K., Bowers, J., & Benner, R. A., Jr. (2015). Prevalence and characterization of high histamine-producing bacteria in Gulf of Mexico fish species. *Journal of Food Protection*, 78(7), 1335–1342. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-012>
16. Brenner, D., Farmer, J. J., Fanning, G. R., Steigerwalt, A. G., Klykken, P. C., Wathen, H. G., Hickman, F. W., & Ewing, W. H. (1978). Relación entre el ácido desoxirribonucleico de las especies de *Proteus* y *Providencia*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 28, 269–282.
17. Campiña, L., & Campiña, L. (2023, mayo 30). Pesca ribereña y acuicultura, claves en combate a la pobreza. *Revista La Campiña*. <https://revistalacampina.mx/2023/05/30/pesca-riberena-y-acuicultura-claves-en-combate-a-la-pobreza/>
18. Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2014). *Microbiology: A laboratory manual* (10th ed.). Pearson Education.
19. Carmona, F., Fábregues, F., Alvarez, R., Vila, J., & Cararach, V. (1992). A rare case of chorioamnionitis by *Morganella morganii* complicated by septicemia and adult respiratory distress syndrome. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 45(1), 67–70. [https://doi.org/10.1016/0028-2243\(92\)90196-6](https://doi.org/10.1016/0028-2243(92)90196-6)

20. Castellani, A. (1914). Nota sobre casos de fiebre por *Bacterium columbense* (Cast. 1905). *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Erste Abteilung Originale*, 74, 197–200.
21. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. (2022, 26 de agosto). *Los retos de incrementar el consumo de pescados y mariscos*. Recuperado de <https://www.ciad.mx/los-retos-de-incrementar-el-consumo-de-pescados-y-mariscos/>
22. Chen, Y. T., Peng, H. L., Shia, W. C., Hsu, F. R., Ken, C. F., Tsao, Y. M., Chen, C. H., Liu, C. E., Hsieh, M. F., Chen, H. C., Tang, C. Y., & Ku, T. H. (2012). Whole-genome sequencing and identification of *Morganella morganii* KT pathogenicity-related genes. *BMC genomics*, 13 Suppl 7(Suppl 7), S4. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-S7-S4>
23. Chiu, C. H., Su, L. H., & Chu, C. (2020). Application of MALDI-TOF mass spectrometry in microbial identification. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1986. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01986>
24. Cinvestav-Langebio. (2025). *Oferta de servicios genómicos: Secuenciación Sanger*. Recuperado el 8 de octubre de 2025, de <https://svt.cinvestav.mx/Oferta-de-Servicios/Servicios-Gen%C3%B3micos>
25. Clark, A. E., Kaleta, E. J., Arora, A., & Wolk, D. M. (2013). Matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry: A fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(3), 547–603. <https://doi.org/10.1128/CMR.00072-12>
26. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (CONAPESCA). (2024). *Produce México más de 1 millón 900 mil toneladas de especies pesqueras y acuícolas en 2023*. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/conapesca/prensa/produce-mexico-mas-de-1-millon-900-mil-toneladas-de-especies-pesqueras-y-acuicolas-en-2023>
27. Croxatto, A., Prod'hom, G., & Greub, G. (2012). Applications of MALDI-TOF MS in diagnostic microbiology. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(2), 380–407. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00298.x>
28. De Cerio, O. G., Barrutia-Borquez, A., & Gardeazabal-García, J. (2016). Scombroid poisoning: A practical approach. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 107(7), 567–571. <https://doi.org/10.1016/j.adengl.2016.06.003>

29. De, A., Raj, H. J., & Maiti, P. K. (2016). Biofilm in osteomyelitis caused by a rare pathogen, *Morganella morganii*: A case report. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(6), DD06–DD08. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/18666.7990>
30. DeBeeR, J., Bell, J. W., Nolte, F., Arcieri, J., & Correa, G. (2021). Histamine Limits by Country: A Survey and Review. *Journal Of Food Protection*, 84(9), 1610-1628. <https://doi.org/10.4315/jfp-21-129>
31. Del Rosario Rodicio, M., & Mendoza, M. del C. (2004). Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: Fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 22(4), 238–245. <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-identificacion-bacteriana-mediante-secuenciacion-del-13059055>
32. Desjardins, P., & Conklin, D. (2010). NanoDrop microvolume quantitation of nucleic acids. *Journal of Visualized Experiments*, (45), e2565. <https://doi.org/10.3791/2565>
33. EDVOTEK. (2021). *In-gel SYBR® Safe DNA staining protocol*. EDVOTEK. https://www.edvotek.com/site/pdf/DNA_Stain_Guide.pdf
34. Emborg, J., Dalgaard, P., & Ahrens, P. (2006). *Morganella psychrotolerans* sp. nov., a histamine-producing bacterium isolated from various seafoods. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(10), 2473–2479. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64357-0>
35. Ewing, W. H. (1962). The tribe *Proteeae*: Its nomenclature and taxonomy. *International Bulletin of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy*, 12, 93–102.
36. Feng, C., Teo, J., & Aung, K. (2016). Identification of histamine-producing bacteria by PCR. *Food Control*, 65, 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.016>
37. Feng, C., Teuber, S., & Gershwin, M. E. (2016). Histamine (scombroid) fish poisoning: A comprehensive review. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 50(1), 64–69. <https://doi.org/10.1007/s12016-015-8467-x>
38. Feucherolles M, Poppert S, Utzinger J, Becker SL. MALDI-TOF mass spectrometry as a diagnostic tool in human and veterinary helminthology: a systematic review. *Parasit Vectors*. 2019;12(1):245. Published 2019 May 17. doi:10.1186/s13071-019-3493-9
39. Food and Agriculture Organization (FAO). (2003). *Assessment and management of seafood safety and quality*. FAO Fisheries Technical Paper No. 444.
40. Food and Agriculture Organization (2020). *Fishery and aquaculture statistics*. Food and Agriculture Organization.

41. Food and Agriculture Organization. (2011). *Manual for laboratory investigations of foodborne pathogens*. FAO.
42. Food and Agriculture Organization (FAO). (1999). *The state of world fisheries and aquaculture*.
43. Food and Agriculture Organization. (2022). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022*. Roma: FAO.
44. Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2007). *Bailey & Scott's diagnostic microbiology* (12th ed.). Mosby Elsevier.
45. Frith, A., Hayes-Mims, M., Carmichael, R., & Björnsdóttir-Butler, K. (2023). Effects of environmental and water quality variables on histamine-producing bacteria concentration and species in the Northern Gulf of Mexico. *Microbiology Spectrum*, 11(4), e0472022. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04720-22>
46. Fulton, M. (1943). The identity of *Bacterium columbensis* Castellani. *Journal of Bacteriology*, 46(1), 79–82. <https://doi.org/10.1128/jb.46.1.79-82.1943>
47. Gallagher, S. R. (2011). Quantitation of DNA and RNA with absorption and fluorescence spectroscopy. In *Current Protocols in Molecular Biology* (pp. A.3D.1–A.3D.21). Wiley. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mba03ds94>
48. Greenpeace México. (2021, julio 20). ¿Cómo afecta la pesca industrial al planeta? Recuperado de <https://www.greenpeace.org/mexico/blog/10633/como-afecta-la-pesca-industrial-al-planeta/>
49. Guzmán, J. P. M. D., De Las Alas, T. P. L., Lucban, M. C., & Sevilla, C. E. C. (2020). Green tea (*Camellia sinensis*) extract inhibits biofilm formation in acyl homoserine lactone-producing, antibiotic-resistant *Morganella morganii* isolated from Pasig River, Philippines. *Heliyon*, 6(10), e05284. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05284>
50. Habib, I., Mohamed, M.-Y. I., & Khan, M. (2021). Estado actual de *Salmonella*, *Campylobacter* y *Listeria* en la cadena alimentaria en los países árabes: Una revisión descriptiva. *Foods*, 10(10), 2369. <https://doi.org/10.3390/foods10102369>
51. Huang, C. H., Hsieh, C. Y., Lee, Y. C., Ou, T. Y., Chang, T. H., Lee, S. H., Tseng, C. H., & Tsai, Y. H. (2022). Inhibitory effects of high-hydrostatic-pressure processing on growth and histamine formation of histamine-forming bacteria in yellowfin tuna meat during storage. *Biology*, 11(5), 702. <https://doi.org/10.3390/biology11050702>
52. Hungerford, J. M. (2010). Scombroid poisoning: A review. *Toxicon*, 56(2), 231–243. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.02.006>

53. ISO 7218. (2007). *Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations*.
54. Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2007). 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(9), 2761–2764. <https://doi.org/10.1128/JCM.01228-07>
55. Jensen, K. T., Frederiksen, W., Hickman-Brenner, F. W., Steigerwalt, A. G., Riddle, C. F., & Brenner, D. J. (1992). Recognition of *Morganella* subspecies, with proposal of *Morganella morganii* subsp. *morganii* subsp. nov. and *Morganella morganii* subsp. *sibonii* subsp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 42(4), 613–620. <https://doi.org/10.1099/00207713-42-4-613>
56. Kanki, M., Yoda, T., Ishibashi, M., & Tsukamoto, T. (2007). Characterization of *Morganella morganii* carrying *hdc* gene. *Food Microbiology*, 66, 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.002>
57. Khatouf, R., Dahani, S., Hariri, O. E., Amiyare, R., & Bouchriti, N. (2024). Microbiological profile and prevalence of histamine-producing bacteria in fresh sardines stored at different temperatures. *Veterinary World*, 17(10), 2376–2384. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2024.2376-2384>
58. Kim, J. H., Cho, C. R., Um, T. H., Rhu, J. Y., Kim, E. S., Jeong, J. W., & Lee, H. R. (2007). *Morganella morganii* sepsis with massive hemolysis. *Journal of Korean Medical Science*, 22(6), 1082–1084. <https://doi.org/10.3346/jkms.2007.22.6.1082>
59. Kim, S. H., Ben-Gigirey, B., Barros-Velázquez, J., Price, R. J., & An, H. (2000). Histamine and biogenic amine production by *Morganella morganii* isolated from temperature-abused albacore. *Journal of Food Protection*, 63(2), 244–251. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.2.244>
60. Klanian, M. G., Díaz, M. D., & Solís, M. J. S. (2018). Molecular Characterization of Histamine-Producing Psychrotrophic Bacteria Isolated from Red Octopus (*Octopus maya*) in Refrigerated Storage. *High-Throughput*, 7(3), 25. <https://doi.org/10.3390/ht7030025>
61. Konieczna, I., Zarnowiec, P., Kwinkowski, M., Kolesinska, B., Fraczyk, J., Kaminski, Z., & Kaca, W. (2012). Bacterial urease and its role in long-lasting human diseases. *Current Protein & Peptide Science*, 13(8), 789–806. <https://doi.org/10.2174/138920312804871094>
62. Lavon, O., Lurie, Y., & Bentur, Y. (2008). Scombroid fish poisoning in Israel, 2005–2007. *The Israel Medical Association journal : IMAJ*, 10(11), 789–792.

63. Lee, Y., Hsieh, C., Chen, M., Wang, C., Lin, C., & Tsai, Y. (2020). High-pressure inactivation of histamine-forming bacteria *Morganella morganii* and *Photobacterium phosphoreum*. *Journal of Food Protection*, 83(4), 621–627. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-267>
64. Liu, H., Zhu, J., Hu, Q., & Rao, X. (2016). *Morganella morganii*, a non-negligent opportunistic pathogen. *International Journal of Infectious Diseases*, 50, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.07.006>
65. Lozano, C., Kielbasa, M., Gaillard, J., Miotello, G., Pible, O., & Armengaud, J. (2022). Identification and Characterization of Marine Microorganisms by Tandem Mass Spectrometry Proteotyping. *Microorganisms*, 10(4), 719. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040719>
66. Lugo, N. V., De B, L. B. V., & Nazaret, R. M. (2006). Evaluación microbiológica en manipuladores de alimentos de tres comedores públicos en Cumaná, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 26(2), 95–100. http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_vm/article/view/472/427
67. Manukumar, H. M., & Umesha, S. (2017). MALDI-TOF-MS based identification and molecular characterization of food associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Scientific Reports*, 7, 11414. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11597-z>
68. Metcalf, D., Avery, B. P., Janecko, N., Matic, N., Reid-Smith, R., & Weese, J. S. (2011). *Clostridium difficile* in seafood and fish. *Anaerobe*, 17(2), 85–86. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.02.008>
69. Moreno, A. (2019). *Aislamiento de cepa resistente al mercurio perteneciente a la especie Morganella morganii y análisis de su viabilidad en procesos de remoción de mercurio en matrices acuáticas* [Proyecto de grado, Universidad de Los Andes]. Universidad de Los Andes, Bogotá, Colombia.
70. Morgan, H. (1906). The summer diarrhoea of infants. *British Medical Journal*, 1(2367), 1131–1132. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.2367.1131>
71. Moya, T., Herrera, M., Vargas, A., Herrera, J. F., Marín, J. P., & Herrera, M. (2001). *Morganella morganii*: Estudio sobre el aislamiento de 192 cepas en el Hospital Nacional de Niños, entre 1995 y 2000. *Acta Médica Costarricense*, 43(1). https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85462001000100008

72. Nakao, R., Ramstedt, M., Wai, S. N., & Uhlin, B. E. (2012). Enhanced biofilm formation by *Escherichia coli* LPS mutants defective in O-antigen production. *PLoS ONE*, 7(8), e51241. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051241>
73. Needham, B. D., Carroll, S. M., Giles, D. K., Georgiou, G., Whiteley, M., & Trent, M. S. (2013). Modulating the innate immune response by combinatorial engineering of endotoxin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(4), 1464–1469. <https://doi.org/10.1073/pnas.1218080110>
74. Nomura, F. (2014). Proteome-based bacterial identification using matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS): A revolutionary shift in clinical diagnostic microbiology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1854(6), 528–537. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2014.10.022>
75. Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014. (2014). *Métodos para la determinación de microorganismos indicadores y patógenos en alimentos, bebidas y agua. Diario Oficial de la Federación*. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5353858&fecha=26/09/2014
76. NutritionValue.org. (2024). *Shrimp, raw: Nutritional value*. Recuperado el 9 de mayo de 2025, de https://www.nutritionvalue.org/Shrimp,_raw_nutritional_value.html
77. Ohnuma, S., Higa, M., Hamanaka, S., Matsushima, K., & Yamamuro, W. (2001). Un brote de intoxicación alimentaria similar a una alergia. *Internal Medicine*, 40(8), 833–835. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.40.833>
78. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (1999). *Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros*. <https://www.fao.org/3/x5991s/x5991s00.htm>
79. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2022). *Una producción pesquera y acuícola sin precedentes contribuye de manera decisiva a la seguridad alimentaria mundial*. <https://www.fao.org/newsroom/detail/record-fisheries-aquaculture-production-contributes-food-security-290622/es>
80. Organización Mundial de la Salud (OMS). (2005). *Manual para la identificación en laboratorio y las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana de patógenos bacterianos de importancia en salud pública*. Ginebra: OMS.

81. Otzen, T., & Manterola, C. (2017). Técnicas de muestreo sobre una población a estudio. *International Journal of Morphology*, 35(1), 227–232. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022017000100037>
82. Park, S. M., Kim, H. W., Choi, C., & Rhee, M. S. (2021). Pathogenicity and seasonal variation of *Aeromonas hydrophila* isolated from seafood and ready-to-eat sushi in South Korea. *Food Research International*, 147, 110484. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110484>
83. Patel, R. (2015). MALDI-TOF MS for the diagnosis of infectious diseases. *Clinical Chemistry*, 61(1), 100–111. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2014.221770>
84. Pavlovic, M., Huber, I., Konrad, R., & Busch, U. (2013). Application of MALDI-TOF MS for the identification of food borne bacteria. *The Open Microbiology Journal*, 7, 135–141. <https://doi.org/10.2174/1874285801307010135>
85. Phadtare, I., Vaidya, H., Hawboldt, K., & Cheema, S. K. (2021). Shrimp oil extracted from shrimp processing by-product is a rich source of omega-3 fatty acids and astaxanthin-esters, and reveals potential anti-adipogenic effects in 3T3-L1 adipocytes. *Marine Drugs*, 19(5), 259. <https://doi.org/10.3390/md19050259>
86. Pomastowski, P., Złoch, M., Rodzik, A., Ligor, M., Kostrzewa, M., & Buszewski, B. (2019). Analysis of bacteria associated with honeys of different geographical and botanical origin using two different identification approaches: MALDI-TOF MS and 16S rDNA PCR technique. *PLoS ONE*, 14(5), e0217078. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217078>
87. Prabhakar, P., Lekshmi, M., Ammini, P., Nayak, B. B., & Kumar, S. (2020). Salmonella contamination of seafood in landing centers and retail markets of Mumbai, India. *Journal of AOAC International*, 103(5), 1361–1365. <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsaa042>
88. Qadee, S. E., Helmy, O., Almorsy, T., & Ramadan, M. (2018). MALDI-TOF MS Biotyper and polymerase chain reaction for rapid identification of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in non-sterile pharmaceutical preparations. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(9), 3656–3663. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9\(9\).3656-63](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9(9).3656-63)
89. Raetz, C. R. H., & Whitfield, C. (2002). Lipopolysaccharide endotoxins. *Annual Review of Biochemistry*, 71, 635–700. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.71.110601.135414>

90. RAI, UNAM. (2025). *Servicios de secuenciación Sanger*. Recuperado el 8 de octubre de 2025, de <https://rai.unam.mx/pages/s-sanger.html>
91. Ramos, J. N., Da Costa, L. V., Vieira, V. V., & Brandão, M. L. L. (2025). Challenges in the identification of environmental bacterial isolates from a pharmaceutical industry facility by 16S rRNA gene sequences. *DNA*, 5(3), 33. <https://doi.org/10.3390/dna5030033>
92. Rauss, K. F. (1936). The systematic position of Morgan's bacillus. *The Journal of Pathology*, 42(1), 183–192. <https://doi.org/10.1002/path.1700420120>
93. Reyes-Rodríguez, N. E., Soriano-Vargas, E., Barba-León, J., Navarro, A., Talavera-Rojas, M., Sanso, A. M., & Bustamante, A. V. (2015). Genetic characterization of *Escherichia coli* isolated from cattle carcasses and feces in Mexico state. *Journal of food protection*, 78(4), 796–801. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-425>
94. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2015). *El pescado mexicano, muy internacional*. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/el-pescado-mexicano-muy-internacional>
95. Siboni, K. (1978). Correlación de los caracteres de fermentación de trehalosa, resistencia no transmisible a la tetraciclina y longitud de onda flagelar relativamente larga en *Proteus morganii*. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica, Section B*, 84, 421–427.
96. Singhal, N., Kumar, M., Kanaujia, P. K., & Virdi, J. S. (2015). MALDI-TOF MS: Emerging technology for identification. *Frontiers in Microbiology*, 6, 791. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00791>
97. Skerman, V. B., McGowan, V., & Sneath, P. H. A. (1980). Listas aprobadas de nombres bacterianos (modificadas). *International Journal of Systematic Bacteriology*, 30, 225–420.
98. Tanyag, B., Quiambao, J. J., Ko, A. A., Singh, A., Cambia, F., & Montojo, U. (2021). Prevalence of *invA* gene of *Salmonella* spp. in fish and fishery resources from Manila Bay aquaculture farms using real-time PCR. *Applied Microbiology*, 1(3), 510–519. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol1030033>
99. Taylor, S. L., & Eitenmiller, R. R. (1986). Histamine food poisoning: Toxicology and clinical aspects. *CRC Critical Reviews in Toxicology*, 17(2), 91–128. <https://doi.org/10.3109/10408448609023767>
100. Torres, D. T., Keb, C. A. C., Alcántara, J. G., Balan, R. A. P., Baldemar, A. C., Rodríguez, G. V., Mayari, T. R. P., Gastélum, J. L. A., Alcocer, B. S., & Alcantara,

- E. J. G. (2022). Prevalence of multidrug-resistant *Salmonella* in raw shrimp and octopus in Campeche, Mexico. *Journal of Health Sciences*. <https://doi.org/10.17532/jhsci.2022.1752>
101. Tortorella, V., Masciari, P., Pezzi, M., Mola, A., Tiburzi, S. P., Zinzi, M. C., Scozzafava, A., & Verre, M. (2014). Histamine poisoning from ingestion of fish or scombroid syndrome. *Case Reports in Emergency Medicine*, 2014, 1–4. <https://doi.org/10.1155/2014/482531>
 102. Trevisani, M., Cevoli, C., Ragni, L., Cecchini, M., & Berardinelli, A. (2021). Effect of non-thermal atmospheric plasma on viability and histamine-producing activity of psychrotrophic bacteria in mackerel fillets. *Frontiers in Microbiology*, 12, 653597. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.653597>
 103. Tsuchida, S., Umemura, H., & Nakayama, T. (2020). Current status of matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in clinical diagnostic microbiology. *Molecules*, 25(20), 4775. <https://doi.org/10.3390/molecules25204775>
 104. Uehara, S., Kobayashi, M., Kimura, K., Suzuki, J., & Sadamasu, K. (2021). Rapid identification of histamine-producing bacteria isolated from fish using MALDI-TOF MS. *Journal of Food Science and Technology*, 58(10), 4055–4061. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05092-7>
 105. Vila, J., Soriano, A., & Mensa, J. (2008). Bases moleculares de la adherencia microbiana sobre los materiales protésicos. Papel de las biocapas en las infecciones asociadas a los materiales protésicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 26(1), 48–55. <https://doi.org/10.1157/13114395>
 106. Visciano, P., Schirone, M., & Paparella, A. (2020). An overview of histamine and other biogenic amines in fish and fish products. *Foods*, 9(12), 1795. <https://doi.org/10.3390/foods9121795>
 107. Waliullah, S., Hudson, O., Oliver, J. E., Brannen, P. M., Ji, P., & Ali, M. E. (2019). Comparative analysis of different molecular and serological methods for detection of *Xylella fastidiosa* in blueberry. *PLoS ONE*, 14(9), e0221903. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221903>
 108. Winn, W. C., Allen, S. D., Janda, W. M., Koneman, E. W., Procop, G. W., Schreckenberger, P. C., & Woods, G. L. (2020). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* (8th ed.). Wolters Kluwer.

109. Winslow, C. E. A., Kligler, I. J., & Rothberg, W. (1919). Estudios sobre la clasificación del grupo de bacterias tifoideas del colon con especial referencia a sus reacciones fermentativas. *Journal of Bacteriology*, 4, 429–503.
110. Woese, C. R., Kandler, O., & Wheelis, M. L. (1990). Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(12), 4576–4579. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.12.4576>
111. Wongsariya, K., Bunyaphrathatsara, N., Yasawong, M., & Chomnawang, M. T. (2015). Development of molecular approach based on PCR assay for detection of histamine-producing bacteria. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 640–648. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1982-1>
112. Woo, P., Lau, S., Teng, J., Tse, H., & Yuen, K. (2008). Then and now: Use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clinical Microbiology and Infection*, 14(10), 908–934. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02070.x>
113. Zalas-Więcek, P., Michalska, A., & Gospodarek, E. (2012). *Morganella* sp. rods – Characteristics, infections, mechanisms of resistance to antibiotics. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 66, 242–251. <https://doi.org/10.5604/17322693.992214>
114. Zarić, R. Z., Janković, S., Zarić, M., Milosavljević, M., Stojadinović, M., & Pejčić, A. (2021). Antimicrobial treatment of *Morganella morganii* invasive infections: Systematic review. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 39(4), 404–412. <https://doi.org/10.1016/j.ijmmb.2021.06.005>
115. Zeidler, C., Szott, V., Alter, T., Huehn-Lindenbein, S., & Fleischmann, S. (2024). Prevalence of *Vibrio* spp. in seafood from German supermarkets and fish markets. *Foods*, 13(24), 3987. <https://doi.org/10.3390/foods13243987>