

# Incidencia de histamina y de bacterias indicadoras de calidad higiénica, en filetes, ruedas y trozos de pescado de especies pelágicas comercializadas en un mercado de pescado de la isla de Margarita (Venezuela)

## Incidence histamine and hygienic quality indicators' s bacteria in fillets, slice and pieces pelagic fish' s marketing in one fish' s market of Margarita' s Island (Venezuela)

MARÍA M IRIARTE<sup>1</sup> Y MARÍA M TORRES<sup>1</sup>

### RESUMEN

Se estudió la incidencia de histamina y de bacterias indicadoras de manejo higiénico en filetes, ruedas y trozos de diez especies de pescado en estado fresco, (*Euthynnus alletteratus*; *Caranx latus*; *Ophisthonema oglinum*; *Alectis crinitus*; *Sardinella aurita*; *Thunnus alalunga*; *Sarda sarda*; *Scomberomorus cavalla*; *Coryphaena hippurus* y *Xyphias gladius*), comercializadas en un mercado de pescado de Isla de Margarita (Venezuela). Según normas COVENIN se enumeraron (UFC g<sup>-1</sup>) aerobios a 25 y 32 °C, coliformes fecales y *Escherichia coli* (NMP g<sup>-1</sup>); histamina (mg/100 g) y pH. También recuentos (UFC g<sup>-1</sup>) de enterobacterias (ICMSF) y bacterias descarboxiladoras de histidina (Niven y otros). Todos los recuentos de aerobios a 25 °C excedieron el valor **m** (Log<sub>10</sub> = 5,70 UFC g<sup>-1</sup>) fijado por ICMSF (1986). La prueba **r** de Pearson indicó que los recuentos a 25 y 32 °C estuvieron altamente relacionados (n = 90; r = 0,89; p < 0,01). *E. coli* superó en el 76% de las muestras el valor **m** (Log<sub>10</sub> = 1,04 NMP g<sup>-1</sup>). Las mayores cifras de histamina se detectaron en *T. alalunga* (promedio 43,5 mg/100 g en uno de tres muestreos); seguido por *S. aurita* (promedios de 23,7 y 28,0 mg/100 g respectivamente, en dos muestreos). Sólo en muestras de *T. alalunga* se detectaron olores penetrantes y músculos con elasticidad disminuida. Estos datos y la observación de factores adversos, tales como contacto directo con superficies y utensilios sucios, restos de vísceras

### ABSTRACT

The incidence of histamine and of bacteria that indicate hygienic handling of fillets, slices and pieces of ten pelagic fresh fish (*Euthynnus alletteratus*; *Caranx latus*; *Ophisthonema oglinum*; *Alectis crinitus*; *Sardinella aurita*; *Thunnus alalunga*; *Sarda sarda*; *Scomberomorus cavalla*; *Coryphaena hippurus* and *Xyphias gladius*), sold in a fish market at Margarita Island (Venezuela) was assessed. According to COVENIN's norms, total aerobic plate count (FCU g<sup>-1</sup>) at 25 and 32 °C; fecal coliforms and *Escherichia coli* (MPN g<sup>-1</sup>); histamine (mg/100 g) and pH were measured. Also, members of the *Enterobacteriaceae* family (FCU g<sup>-1</sup>) and histamine producing bacteria were counted, according to ICMSF and Niven *et al* respectively. All total aerobic plate count at 25 °C surpassed the **m** number (Log<sub>10</sub> = 5.70 CFU g<sup>-1</sup>) established by ICMSF (1986). The Pearson test (**r**) showed that bacteria total counts at 25 and 32 °C were highly related (n = 90; r = 0.89; p < 0.01). *E. coli* exceeded in 76% of samples the number (Log<sub>10</sub> = 1.04 MPN g<sup>-1</sup>). Histamine biggest numbers were detected in *T. alalunga* (average 43.5 mg/100 g in one of three samplings), followed by *S. aurita* (averages of 23.7 and 28.0 mg/100 g respectively, in two samplings). Only in *T. alalunga* samples were penetrating odors detected and muscles with reduced elasticity. This data and the adverse factors observed, such as: fish in direct contact with dirty areas and utensils, leftover viscera,

<sup>1</sup> Fundación La Salle de Ciencias Naturales, Campus de Margarita. Laboratorio de Microbiología, Dpto. de Control de Calidad - EDIMAR. Apdo. Postal 144, Porlamar, Edo. Nva. Esparta, 6301, Venezuela. Tel. - Fax (58-295) 2398051. miriarte2000@yahoo.es

ras, desangrado deficiente, presencia de insectos, utilización de agua no potable y la exposición a temperaturas no apropiadas, reflejan que la manipulación del pescado no fue adecuada. Se recomienda que inspectores sanitarios implementen acciones tendientes a corregir estas deficiencias.

**Palabras clave:** Pescado, mercado de pescado, histamina, bacterias indicadoras, aerobios mesófilos, coliformes fecales, *Escherichia coli*.

faulty bleeding, presence of insects, use of non potable water and the exposition of fish at inappropriate temperatures, revealed the handling of fish was not suitable. It is recommended that sanitary officers carry out actions necessary to correct these deficiencies.

**Key words:** Fish, fish market, histamine, bacteria indicators, total plate count, fecal coliforms, *Escherichia coli*.

## INTRODUCCIÓN

El pescado es una fuente importante de proteínas de alto valor, pero por su composición química y por la reacción poco ácida de su carne, es altamente perecedero y sufre procesos autolíticos de degradación rápida y una acelerada multiplicación bacteriana<sup>(1)</sup>. Además, cuando no se manipula de acuerdo a las normas recomendadas, alguna de las bacterias presentes forman metabolitos conocidos como aminas biógenas<sup>(2)</sup>, tales como putrescina, cadaverina, tiramina e histamina<sup>(3)</sup>. La histamina, causa una enfermedad transmitida por alimentos particularmente asociada al consumo de pescado, aun cuando otros alimentos también lo hacen.

En pescado, la histamina a veces se llama escombrotóxina por su asociación con los escómbridos (por ejemplo, atún, cabaña, carite y bonito), aunque especies distintas a éstas como las de la familia *Clupeidae* (sardina, machuelo) y el dorado tienen en su carne altos niveles de precursores de aminoácidos<sup>(4,5)</sup>. En general, todas estas especies presentan como característica común altos niveles de histidina en el músculo<sup>(6)</sup> que posteriormente se transforma en histamina y puede provocar intoxicación.

Sobre la histamina existen numerosos registros epidemiológicos. Ha sido implicada en el 7,5% de todos los brotes de ETA y en el 38% de las enfermedades relacionadas con productos pesqueros<sup>(7)</sup>. En Venezuela, estadísticas sobre brotes ocurridos desde 1993 hasta 2003<sup>(8)</sup> reportan a la escombrotóxina como agente etiológico en 32 brotes (15%), con un total de 271 afectados (5,4%). Por otra parte, en el Edo. Nueva Esparta el 73% de los casos de ETA acaecidos en la región durante 1990-1999, fueron por histamina y toxina paralizante de moluscos<sup>(9)</sup>. Entre las especies implicadas se destacó con 10 casos (7,5%) la cabaña negra (*Auxis thazard*)<sup>(10)</sup>.

La histamina se forma por la multiplicación de bacterias Gram negativas naturalmente presentes en el pescado<sup>(4)</sup>, entre ellas, *Morganella morganii*, *Raoultella planctica* y *Enterobacter aerogenes*. Estas bacterias son mesófilas, por tanto, controlar la temperatura es primordial para evitar la formación de histamina. Algunas recomendaciones especifican que los productos pesqueros susceptibles de producir histamina deben enfriarse por debajo de 4 °C una vez capturados, particularmente cuando la temperatura ambiente del aire o del agua son superiores a 28,3 °C<sup>(3)</sup>.

Por lo general, en el Edo. Nueva Esparta no se cumple esta recomendación cuando se comercializa el pescado en mercados, pues los diferentes productos pesqueros, tanto enteros como troceados o fileteados, se mantienen en los puestos de venta a la temperatura ambiente del lugar. La temperatura promedio de la región insular es de unos 26 °C<sup>(11)</sup> y es común que ascienda a más de 30 °C. Por tanto, en la manipulación de dichos pescados no se acatan las normas de manipulación y conservación y es probable que la contaminación post-captura del pescado que acaece durante las etapas de clasificación, desviscerado, desangrado y fileteado o troceado, acelere la aparición de deterioro y, que se forme histamina en las especies de pescado que son susceptibles a ello.

El presente trabajo tiene por objetivo evaluar la incidencia de histamina y de bacterias indicadoras de calidad higiénica en filetes, ruedas y trozos de pescado fresco de especies pelágicas comercializadas en un mercado de pescado de la Isla de Margarita (Venezuela).

## METODOLOGÍA

Las muestras se adquirieron en horas matutinas, entre 08:50 y 11:00 a.m. en diferentes puestos de venta

del Mercado de Los Cocos de Porlamar (municipio Mariño, Isla de Margarita), durante los años 2007 a 2009 (ambos inclusive). Se tomó registro de la apariencia general, textura y de la temperatura, que fue medida con un termómetro bimetálico. Las muestras de pescado se trasladaron al laboratorio en una cava de plástico rodeadas de hielo y fueron analizadas el mismo día. Cada especie en forma de filetes, ruedas o trozos, se captó en tres oportunidades diferentes, cada una de ellas con tres unidades (para un total de 9 unidades por especie), en cantidades de aproximadamente 350 g por unidad, que el vendedor colocaba en bolsas de plástico tipo CLIC. Las especies evaluadas fueron:

- Cabaña Pintada (*Euthynnus alletteratus*).
- Jurel Ojo Gordo (*Caranx latus*).
- Machuelo (*Ophisthonema oglinum*).
- Palometa (*Alectis crinitus*).
- Sardina (*Sardinella aurita*).
- Atún Albacora (*Thunnus alalunga*).
- Cabaña Cariba o Bonita (*Sarda sarda*).
- Carite Lucio (*Scomberomorus cavalla*).
- Dorado (*Coryphaena hippurus*).
- Palagar (*Xyphias gladius*).

No fue posible obtener información acerca de la procedencia, lugar y/o fecha de captura, ni de los días que los pescados tenían comercializándose. Tampoco si los pescados se lavaron antes de llegar a los puestos del mercado con el fin de arrastrar la mayor parte de la mucosidad y suciedad que traen en la superficie; práctica que reduciría la carga bacteriana del pescado<sup>(12)</sup>, siempre y cuando el agua utilizada fuera potable.

Una vez recibidas las muestras en el laboratorio, se prepararon según las pautas dadas por COVENIN 1126<sup>(13)</sup>, pesándose 25 g del músculo de pescado por unidad, evitando piel y espinas. Posteriormente se licuaron con 225 mL de agua peptonada 0,1% estéril por 90-120 segundos.

Para los recuentos de aerobios mesófilos a 25 y 32 °C, se utilizó Agar para Recuento en Placa<sup>(14)</sup>, complementado con 0,5% de NaCl<sup>(15,16)</sup>, incubándose las placas a 25 °C durante 4 días<sup>(17)</sup> y las correspondientes a 32 °C por 48 horas. Los resultados se expresan como unidades

formadoras de colonias/gramo de pescado (UFC g<sup>-1</sup>). La determinación de coliformes fecales y de *Escherichia coli* se realizó según COVENIN 1104<sup>(18)</sup>, expresando los resultados como número más probable/ gramo de pescado (NMP g<sup>-1</sup>). Para el recuento en placa de bacterias descarboxiladoras de histidina se utilizó el medio de cultivo diferencial histidina, ideado por Niven y otros<sup>(19)</sup>, recomendado también por Chen y otros<sup>(20)</sup> y Post<sup>(21)</sup>. Y para el recuento en placa de enterobacterias se siguieron las especificaciones de ICMSF<sup>(22)</sup>, utilizando Agar con Bilis, Rojo Neutro y Violeta Cristal complementado con Glucosa. En la medición del pH se utilizó el procedimiento de la Norma COVENIN 1315<sup>(23)</sup> y la determinación de histamina se hizo de acuerdo a COVENIN 3186<sup>(24)</sup> y AOAC<sup>(25)</sup>, expresándose los resultados como miligramos de histamina en 100 g de muestra (mg de histamina/100 g).

Los resultados de los análisis microbiológicos se compararon con los siguientes límites recomendados para pescados<sup>(26)</sup>.

- Aerobios mesófilos (UFCg<sup>-1</sup>) (a 25 °C):  
 $m = 5 \times 10^5$  (Log<sub>10</sub> = 5,70)     $M = 10^7$  (Log<sub>10</sub> = 7,0)
- *Escherichia coli* (NMPg<sup>-1</sup>):  $m = 11$  (Log<sub>10</sub> = 1,04)  
 $M = 500$  (Log<sub>10</sub> = 2,7)

El requisito utilizado para comparar el contenido de histamina en atún (*T. alalunga*) fue el especificado en Gaceta Oficial<sup>(27)</sup> y para las otras especies el de MAC-SARPA<sup>(28)</sup>, actualmente INSOPESCA, que plantea que el valor medio de histamina deberá ser inferior a 100 ppm (10 mg/100 g). También se utiliza una clasificación descrita por Shalaby<sup>(2)</sup>.

Las pruebas estadísticas se apoyaron en el Programa Microsoft Excel 97 y Statgraphic<sup>TM</sup>, de Statistical Graphics Systems Corporation, STSC Inc.<sup>(29)</sup>. Para cálculos matemáticos, los valores inferiores o superiores al rango de sensibilidad de las pruebas se fijaron como sigue: 99 en vez de < 100 estimado (UFC g<sup>1</sup>); 2,9 cuando el resultado era < 3 (NMP g<sup>1</sup>); 1.101 en el caso de ser  $\geq 1.100$  (NMP g<sup>1</sup>). Posteriormente se transformaron en logaritmos base 10. Los resultados de las distintas especies se sometieron a análisis de varianza (ANOVA, una vía) ( $p = 0,05$ ) y para las diferencias entre medias se aplicaron pruebas de Rango Múltiple.

Por último, se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson ( $r$ ) con el fin de comprobar la asociación significativa entre los resultados de las variables numéricas estudiadas. Si existían la mismas, se analizó la tendencia mediante un análisis de regresión lineal. En todos los casos el nivel de significancia fue de ( $p = 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los valores promedios en  $\text{Log}_{10}$ , la desviación estándar y rango de los indicadores bacterianos de las diez especies de pescado se presentan en la Tabla 1. En ella se observa que todos los recuentos que evalúan la calidad y el deterioro incipiente (aerobios mesófilos a 25 °C) excedieron el valor  $m$  ( $\text{Log}_{10} = 5,70 \text{ UFC g}^{-1}$ ) para pescado fresco fijado por la ICMSF<sup>(26)</sup>. Por tanto, se deduce que los productos pesqueros, al momento de su comercialización, contenían una carga microbiológica superior al límite de aceptabilidad, reflejando que durante las diferentes manipulaciones a las que fueron sometidos no se acataron los criterios sanitarios recomendados, particularmente los de evitar entrar en contacto con elementos contaminantes y los referidos al control del tiempo y temperatura. Este control es primordial para cualquier tipo de pescado, y más aún cuando son susceptibles a la formación de histamina. Por ello, se deben enfriar por debajo de 4 °C dentro de las 4 horas inmediatamente después de su captura y mantenerse refrigerados durante todo el período de almacenamiento, distribución y venta con el fin de prevenir que los consumidores padezcan envenenamiento por histamina<sup>(30)</sup>.

Los recuentos de aerobios mesófilos a 32 °C también fueron altos, aunque no se cuenta con un requisito microbiológico para compararlos. Este ensayo evalúa la seguridad del producto, ya que a dicha temperatura se multiplican las bacterias de origen entérico que llegan al pescado cuando no se toman las medidas higiénicas requeridas durante su manipulación<sup>(15)</sup>. Se estima que los recuentos a 32 °C suelen ser una décima parte de la flora bacteriana que se obtiene a 25 °C<sup>(26)</sup>. Sin embargo, en el presente trabajo el 95,5% de las muestras tuvieron recuentos superiores a 5,70  $\text{UFC g}^{-1}$  ( $\text{Log}_{10}$ ) y la prueba de correlación ( $r$  de Pearson) indica que ambos tipos de recuentos estuvieron altamente relacionados ( $n = 90$ ;  $r = 0,89$ ;  $p < 0,01$ ), por lo que puede tratarse de los mismos

grupos bacterianos que se multiplicaron a las dos temperaturas de incubación.

En lo que respecta a los recuentos de enterobacterias, cinco de las 10 especies (jurel ojo gordo, machuelo, sardina, palagar y dorado) tuvieron promedios superiores a  $\text{Log}_{10} = 3,50 \text{ (UFC g}^{-1}\text{)}$ , igual a la reportada en sardinas desvisceradas al inicio de su almacenamiento, por Erkan y Ozden<sup>(31)</sup>. Esta familia de bacterias se recomienda investigar por cuanto son las causantes, entre otras, de la formación de aminas biógenas<sup>(16)</sup>, siendo particularmente activas en el caso de pescado mantenido a temperatura ambiente (20-37 °C)<sup>(32)</sup>. También este grupo de bacterias mostró una relación positiva, ( $r$  de Pearson), con los recuentos de aerobios mesófilos a 25 °C ( $n = 90$ ;  $r = 0,41$ ;  $p < 0,01$ ) y a 32 °C ( $n = 90$ ;  $r = 0,35$ ;  $p < 0,01$ ), corroborando la manipulación poco higiénica aplicada a estas especies pesqueras después de su captura.

Los resultados de los análisis sobre *Escherichia coli* indicaron que el 76% de las muestras tuvieron valores iguales o superiores al criterio fijado por ICMSF<sup>(26)</sup>, que especifica el valor  $m = \text{Log}_{10} = 1,04 \text{ (NMP g}^{-1}\text{)}$ . Estos valores y los correspondientes a los de coliformes fecales no prueban en sí mismos que los productos evaluados estuvieron expuestos a algún evento altamente contaminante, sino más bien, que durante su manipulación pudo darse una combinación de varios factores adversos, tales como los percibidos al momento de la captación de las muestras, por ejemplo: pescado en contacto directo con superficies y utensilios sucios, contacto con restos de vísceras y otros desechos marinos, desangrado deficiente (el 13,3% de las muestras presentaban excesiva sangre), presencia en el ambiente de moscas y otros insectos, utilización de agua de mar o dulce no potable, además de lo referido anteriormente sobre la exposición a temperaturas no apropiadas durante las operaciones de comercialización. Lo aconsejable hubiese sido, al menos, tenerlos con hielo u otros medios de enfriamiento a una temperatura menor de 7 °C<sup>(33)</sup>, sin embargo, permanecían sobre los puestos de venta sin hielo, a una temperatura promedio al momento de su captación que varió de 15,67 a 20,33 °C (Tabla 2), valores de temperatura que evidentemente corresponden a lo que se denomina rango de temperatura peligrosa para el mantenimiento de cualquier tipo de alimento<sup>(33)</sup> pues bajo estas condiciones se produce una rápida multiplicación de las bacterias presentes en el pescado.

Tabla 1

Valores promedios\* (en Log<sub>10</sub>), desviación estándar y rango (en paréntesis) de los indicadores bacteriológicos presentes en las diferentes muestras de pescado de especies pelágicas comercializadas en un mercado popular de la Isla de Margarita (Venezuela)

| Especie  | Aerobios mesófilos (25 °C) (UFC g <sup>-1</sup> ) | Aerobios mesófilos (32 °C) (UFC g <sup>-1</sup> ) | Bacterias productoras de Histamina (UFC g <sup>-1</sup> ) | Enterobacterias (UFC g <sup>-1</sup> )      | Coliformes fecales (NMP g <sup>-1</sup> )     | Escherichia coli (NMP g <sup>-1</sup> )     |
|--|---|---|---|---|---|---|
| Cabaña Pintada ( <i>Euthynnus alletteratus</i> ) | 6,50 ± 0,49 <sup>a,b</sup><br>(5,86-7,26)         | 6,31 ± 0,67 <sup>b,c</sup><br>(5,34-7,51)         | 2,39 ± 0,68 <sup>b</sup><br>(1,48 - 3,48)                 | 2,79 ± 0,93 <sup>a,b</sup><br>(1,99 - 4,32) | 1,84 ± 0,66 <sup>a,b</sup><br>(0,95 - 2,66)   | 1,32 ± 0,51 <sup>b,c</sup><br>(0,60 - 1,97) |
| Jurel Ojo Gordo ( <i>Caranx latus</i> )          | 6,77 ± 0,34 <sup>a,b,c</sup><br>(6,3 - 7,36)      | 6,72 ± 0,57 <sup>b,c</sup><br>(6,00 - 7,43)       | 2,72 ± 0,22 <sup>b,c</sup><br>(2,36 - 2,95)               | 3,99 ± 0,41 <sup>b,c</sup><br>(3,32 - 4,49) | 1,94 ± 0,61 <sup>a,b,c</sup><br>(1,18 - 3,05) | 1,46 ± 0,23 <sup>b,c</sup><br>(1,18 - 1,97) |
| Machuelo ( <i>Ophisthionema oglinum</i> )        | 6,97 ± 0,13 <sup>b,c</sup><br>(6,77 - 7,15)       | 6,86 ± 0,17 <sup>a</sup><br>(6,65 - 7,18)         | 3,20 ± 0,48 <sup>b,c</sup><br>(2,48 - 3,78)               | 4,04 ± 1,17 <sup>b,c</sup><br>(1,99 - 4,84) | 2,74 ± 0,31 <sup>b</sup><br>(2,38 - 3,05)     | 1,52 ± 0,45 <sup>b,c</sup><br>(0,95 - 2,46) |
| Palometa ( <i>Alectis crinitus</i> )             | 6,43 ± 0,37 <sup>a,b</sup><br>(5,92 - 6,85)       | 6,25 ± 0,17 <sup>a,b</sup><br>(5,99 - 6,53)       | 2,39 ± 0,39 <sup>b</sup><br>(1,78 - 2,97)                 | 2,56 ± 0,77 <sup>b</sup><br>(1,99 - 3,84)   | 1,97 ± 0,54 <sup>a,b,c</sup><br>(0,95 - 2,38) | 1,88 ± 0,49 <sup>b</sup><br>(0,95 - 2,38)   |
| Sardina ( <i>Sardinella aurita</i> )             | 6,90 ± 0,58 <sup>b,c</sup><br>(6,15 - 7,67)       | 6,72 ± 0,75 <sup>b,c</sup><br>(5,84 - 7,63)       | 3,03 ± 1,06 <sup>b,c</sup><br>(2,30 - 4,54)               | 3,68 ± 1,31 <sup>b,c</sup><br>(1,99 - 6,41) | 2,59 ± 0,48 <sup>b</sup><br>(1,97 - 3,05)     | 1,96 ± 0,51 <sup>b</sup><br>(1,04 - 2,66)   |
| Atún Albacora ( <i>Thunnus alalunga</i> )        | 6,90 ± 0,16 <sup>b,c</sup><br>(6,68 - 7,08)       | 6,80 ± 0,19 <sup>b</sup><br>(6,56 - 7,11)         | 2,43 ± 0,36 <sup>a</sup><br>(1,78 - 2,80)                 | 3,39 ± 1,35 <sup>b</sup><br>(1,99 - 5,00)   | 1,97 ± 0,57 <sup>a,b,c</sup><br>(0,95 - 3,04) | 1,63 ± 0,77 <sup>b,c</sup><br>(0,60 - 3,04) |
| Cabaña Cariba o Bonita ( <i>Sarda sarda</i> )    | 6,26 ± 0,53 <sup>a</sup><br>(5,77 - 6,99)         | 5,98 ± 0,80 <sup>b</sup><br>(5,04 - 7,00)         | 2,41 ± 0,63 <sup>b</sup><br>(1,78 - 3,28)                 | 2,35 ± 1,09 <sup>b,c</sup><br>(1,99 - 4,76) | 1,07 ± 0,56 <sup>a</sup><br>(0,30 - 1,97)     | 0,96 ± 0,56 <sup>b</sup><br>(0,30 - 1,97)   |
| Carite Lucio ( <i>Scomberomorus cavalla</i> )    | 6,50 ± 0,44 <sup>a,b</sup><br>(5,71 - 7,04)       | 6,46 ± 0,42 <sup>b,c</sup><br>(5,78 - 7,00)       | 2,49 ± 0,50 <sup>b,c</sup><br>(1,30 - 2,92)               | 2,60 ± 0,94 <sup>b</sup><br>(1,99 - 4,15)   | 1,88 ± 0,80 <sup>a,b</sup><br>(0,30 - 3,04)   | 1,21 ± 0,52 <sup>b,c</sup><br>(0,30 - 1,97) |
| Palagar ( <i>Xiphias gladius</i> )               | 7,19 ± 0,33 <sup>b</sup><br>(6,63 - 7,60)         | 7,00 ± 0,56 <sup>b</sup><br>(6,08 - 7,61)         | 3,04 ± 1,27 <sup>b,c</sup><br>(1,30 - 4,53)               | 4,76 ± 0,26 <sup>c</sup><br>(4,20 - 5,11)   | 2,87 ± 0,31 <sup>b</sup><br>(2,18 - 3,05)     | 2,03 ± 0,62 <sup>b</sup><br>(1,32 - 3,05)   |
| Dorado ( <i>Coryphaena hippurus</i> )            | 6,86 ± 0,43 <sup>b,c,d</sup><br>(6,20 - 7,45)     | 6,70 ± 0,54 <sup>b,c</sup><br>(5,98 - 7,34)       | 3,07 ± 0,47 <sup>b,c</sup><br>(2,41 - 3,66)               | 3,83 ± 1,12 <sup>b,c</sup><br>(1,99 - 5,20) | 1,88 ± 0,96 <sup>a,b</sup><br>(0,30 - 3,05)   | 1,33 ± 0,80 <sup>a,b</sup><br>(0,30 - 2,66) |

\* Resultados obtenidos de 9 unidades de muestra.

Letras superíndices diferentes (a,b,c,d) sobre el valor significan diferencias significativas entre los indicadores bacteriológicos de las especies (p = 0,05).

No obstante, los rangos de temperatura de 10 a 23 °C (Tabla 2), resultan inferiores a la temperatura promedio ambiente reportada para la región<sup>(11)</sup> y por tanto, sugieren que estos productos habían estado almacenados bajo hielo en horas nocturnas, en las cavas existentes en los mismos puestos del mercado y que al comenzar la jornada diaria, se sacaron y colocaron en los mesones donde se ofrecieron a los compradores.

La vigilancia de la temperatura del pescado es una tarea que debe ejercerse desde el momento en que sale del agua. La temperatura en la etapa post-mortem es una función de la del agua de mar, la profundidad a la que fue capturado y también a las condiciones climáticas del lugar<sup>(34)</sup>. Por otra parte, hay especies (tales como *Coryphaena hippurus*, *Katsuwonus pelamis* y *Thunnus albacares*) que generan calor adicional debido a cambios

Tabla 2

Valores promedios\* (en Log<sub>10</sub>), desviación estándar y rango (en paréntesis) de los indicadores físico-químicos presentes en las diferentes muestras de pescado de especies pelágicas comercializadas en un mercado popular de la Isla de Margarita (Venezuela)

| Especie   | Temperatura (°C)<br>al momento<br>de captación | mg de<br>Histamina/100 g                        | pH (25 °C)                                      |
|---|--|---|---|
| Cabaña Pintada<br>( <i>Euthynnus alletteratus</i> ) | 19,70 ± 1,32 <sup>b,c</sup><br>(18,0 – 21,0)   | 13,96 ± 7,27 <sup>a,b,c</sup><br>(6,0 – 25,0)   | 6,10 ± 0,10 <sup>b,c,d,e</sup><br>(5,95 – 6,24) |
| Jurel Ojo Gordo<br>( <i>Caranx latus</i> )          | 18,70 ± 0,50 <sup>b,c,d</sup><br>(18,0 – 19,0) | 14,49 ± 8,70 <sup>a,b,c</sup><br>(2,05 – 31,3)  | 6,09 ± 0,10 <sup>b,c,d,e</sup><br>(5,97 – 6,20) |
| Machuelo<br>( <i>Ophisthionema oglinum</i> )        | 20,0 ± 2,29 <sup>b</sup><br>(18,0 – 23,0)      | 10,61 ± 6,31 <sup>a,b,c</sup><br>(1,5 – 17,5)   | 6,27 ± 0,09 <sup>c</sup><br>(6,17 – 6,43)       |
| Palometa<br>( <i>Alectis crinitus</i> )             | 20,33 ± 2,18 <sup>c</sup><br>(18,0 – 23,0)     | 12,34 ± 5,07 <sup>a,b,c</sup><br>(5,74 – 21,48) | 6,12 ± 0,07 <sup>b,c,d,e</sup><br>(6,03 – 6,20) |
| Sardina<br>( <i>Sardinella aurita</i> )             | 18,33 ± 1,80 <sup>b,c,d</sup><br>(16,0 – 20,0) | 18,28 ± 11,63 <sup>a,b</sup><br>(2,05 – 30,5)   | 6,19 ± 0,18 <sup>b,c,d</sup><br>(5,91 – 6,48)   |
| Atún Albacora<br>( <i>Thunnus alalunga</i> )        | 17,00 ± 1,73 <sup>a,b,c</sup><br>(15,0 – 19,0) | 19,71 ± 18,08 <sup>b</sup><br>(2,78 – 47,0)     | 5,93 ± 0,11 <sup>b,c</sup><br>(5,78 – 6,09)     |
| Cabaña Cariba o Bonita<br>( <i>Sarda sarda</i> )    | 15,67 ± 2,0 <sup>b</sup><br>(13,0 – 17,0)      | 6,61 ± 2,93 <sup>a,b</sup><br>(2,00 – 10,0)     | 5,97 ± 0,35 <sup>b,c,d</sup><br>(5,07 – 6,21)   |
| Carite Lucio<br>( <i>Scomberomorus cavalla</i> )    | 16,0 ± 2,60 <sup>a,b</sup><br>(13,0 – 19,0)    | 4,78 ± 2,29 <sup>a</sup><br>(2,50 – 8,50)       | 6,23 ± 0,09 <sup>c</sup><br>(6,09 – 6,37)       |
| Palagar<br>( <i>Xiphias gladius</i> )               | 17,67 ± 5,77 <sup>b,c,d</sup><br>(10,0 – 22,0) | 8,39 ± 3,59 <sup>a,b,c</sup><br>(3,50 – 13,50)  | 6,02 ± 0,12 <sup>a,b,c,d</sup><br>(5,84 – 6,15) |
| Dorado<br>( <i>Coryphaena hippurus</i> )            | 18,67 ± 0,50 <sup>b,c,d</sup><br>(18,0 – 19,0) | 6,89 ± 0,70 <sup>a,b</sup><br>(6,00 – 8,0)      | 6,31 ± 0,15 <sup>c</sup><br>(6,19 – 6,68)       |

\* Resultados obtenidos de 9 unidades de muestra.

Letras superíndices diferentes (a,b,c,d,e) sobre el valor significan diferencias significativas entre los indicadores físico-químicos de las especies (P = 0,05). alimento<sup>(33)</sup> pues bajo estas condiciones se produce una rápida multiplicación de las bacterias presentes en el pescado.

fisiológicos durante el esfuerzo o lucha que hacen contra las artes de pesca, incrementando la temperatura interna del cuerpo y por tanto, afectando su calidad posterior. Por esto, si se quiere prolongar la calidad del pescado, es importante controlar la temperatura inmediatamente después de la captura, pues es cuando tiene la más alta calidad y ésta sufre pérdidas irreversibles con el tiempo, en una correspondencia relacionada directamente con la temperatura<sup>(35)</sup>, además de que las bacterias formado-

ras prolíficas de histamina se aíslan frecuentemente en pescado expuesto a temperaturas altas (> 15 °C), aunque sea por cortos períodos de tiempo<sup>(36)</sup>.

Como era de esperarse, las cifras de *E. coli* estuvieron altamente relacionadas con las de coliformes fecales (n = 90; r = 0,64; p < 0,01), pero también lo estuvieron (p < 0,01) con las de aerobios mesófilos a 25 °C y 32 °C.

Los valores de los recuentos de bacterias productoras de histamina oscilaron desde Log<sub>10</sub> = 1,30 a 4,54

(UFC g<sup>-1</sup>). Los mayores promedios correspondieron a las especies de sardina, palagar, dorado y machuelo (Tabla 1). En algunos análisis, estos recuentos se vieron dificultados porque el cambio de color del medio de cultivo se extendía por toda la placa, circunstancia reportada anteriormente y que es debida a la presencia de otros productos alcalinos y no solamente de histamina<sup>(37)</sup>. Esto puede conducir a resultados de falsos positivos, pues aquellas colonias que no tienen actividad de la histidina descarboxilasa podrían oscurecerse por este efecto<sup>(38)</sup> y se ha sugerido que los recuentos en Agar Niven solo se consideren como presuntivos y se sometan a una confirmación ulterior, pero esto complicaría el ensayo<sup>(4)</sup>.

En general, las bacterias productoras de histamina que se desarrollaron en el Agar Niven fueron cuatro ciclos logarítmicos más bajos que los obtenidos en los análisis de aerobios mesófilos a 25 °C, situación diferente a la reportada por Kim y otros<sup>(36)</sup> en un trabajo sobre albacora almacenada en bolsas plásticas a 25 °C. En dicho trabajo, los recuentos de estas bacterias fueron 1 ciclo logarítmico menor que los referidos a los recuentos de aerobios mesófilos a 25 °C, pues estos alcanzaron los 10<sup>8</sup> (UFC g<sup>-1</sup>) a los 6 días de almacenamiento, y los de bacterias productoras de histamina 10<sup>7</sup> (UFC g<sup>-1</sup>). Para ese momento, el valor de histamina era 60,4 mg/100 g. Es posible que la diferencia que estos autores obtuvieron de solo un ciclo logarítmico entre ambos tipos de recuentos se deba al control de las condiciones de almacenamiento desde su inicio. En el caso de las ruedas, trozos y filetes de pescado comercializados en la Isla de Margarita, los recuentos de aerobios mesófilos a 25 °C, al momento de la captación de las muestras, eran similares a los encontrados por Kim y otros<sup>(36)</sup> después de 5 días de almacenamiento. En el presente trabajo, los elevados recuentos de aerobios mesófilos a 25 °C han podido originarse por las condiciones en que los pescados fueron manipulados desde que se capturaron, trasladaron en las embarcaciones, desembarcados, días transcurridos desde la captura, desvisceración, desangrado, cortado en trozos, filetes o ruedas, condiciones ambientales del lugar, de los mesones donde se expusieron para su venta, y en general, de la manipulación a la que fueron sometidos por parte de las personas involucradas.

Aun cuando los recuentos de bacterias productoras de histamina no sobrepasaron el Log<sub>10</sub> = 4,54, los ni-

veles de mg de histamina en 100 g de carne hallados en el 22,20% (20/90) oscilaron entre 1 y 5; 36,7% (33/90) entre 6 y 10; el 24,44% (22/90) entre 11 y 20 y finalmente, el 16,70% (15/90) con cifras superiores a 21 mg/100 g y esto pudo ser debido a la actuación de los enzimas histidina descarboxilasas presentes en los pescados, que suelen ser activos, aún cuando las bacterias ya no lo sean<sup>(39)</sup>.

Conforme a estos datos, el 58,9% de las muestras cumplieron el requisito<sup>(27,28)</sup> que especifica un contenido inferior a 100 ppm, equivalente a 10 mg/100 g de histamina<sup>(6)</sup>. Una clasificación más amplia citada por Shalaby<sup>(2)</sup> determina que un valor menor a 5 mg/100 g es seguro para su consumo; en el caso de tener entre 5 y 20 mg/100 g sería posiblemente tóxico; entre 20-100 mg/100 g se consideraría como probablemente tóxico y mayor a 100 mg/100 g indicaría toxicidad y por tanto no sería recomendable su consumo. Acorde a esta clasificación sólo el 22,20% de las muestras evaluadas eran seguras para su consumo.

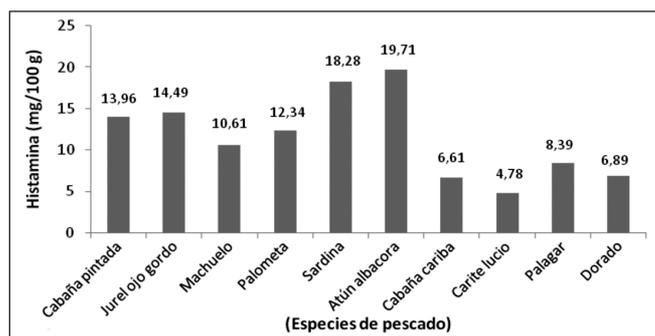
Entre las especies que presentaron altos niveles de histamina (Fig 1), se destacan el atún albacora (*T. alalunga*), con cifras individuales en uno de los muestreos que superaron el límite de 20 mg/100 g, tales como 40,0; 43,5 y 47,0 mg/100 g, aun cuando los recuentos de bacterias productoras de histamina hayan sido bajos Log<sub>10</sub> = de 1,78 a 2,26 (UFC g<sup>-1</sup>). Igualmente, la sardina (*S. aurita*), con valores de 21,98; 24,25; 24,80; 25,00; 28,50 y 30,50 mg/100 g y la cabaña pintada (*E. alletteratus*), con 21,0; 23,50 y 25,0 mg/100 g respectivamente. Se detectó solo en las muestras de atún albacora, previamente a los análisis, un olor penetrante y músculos con elasticidad disminuida, dando a entender que se había iniciado el proceso de degradación del músculo. Sin embargo, otras especies tales como el dorado (*C. hippurus*), el palagar (*X. gladius*), la cabaña cariba o bonita (*S. sarda*) y el carite lucio (*S. cavalla*) también presentaron olores penetrantes a pescado, pero su contenido de histamina fue inferior a 10 mg/100 g.

Los valores individuales de pH fluctuaron de 5,07 a 6,68, y los promedios por especie de 5,93 a 6,31 (Tabla 2). Las cifras de pH más altas (datos individuales y promedios) correspondieron al dorado (*C. hippurus*). Por lo general, los valores de pH aumentan según transcurre el tiempo de almacenamiento e indican la acumulación de

compuestos alcalinos, tales como amoníaco, provenientes principalmente de la acción microbiana. Sin embargo, este parámetro no determina el deterioro de pescado<sup>(31)</sup>, y éste debe corroborarse con análisis químicos y sensoriales. Otros autores<sup>(40)</sup> sostienen que la variación en el pH del músculo está más vinculada al método de captura y al tiempo que el pescado permanece en el agua hasta ser subido a bordo, que al tiempo de almacenamiento.

El análisis de correlación (r de Pearson) confirmó una relación positiva (n = 90; r = 0,23; p < 0,05) entre los valores de pH y los recuentos de bacterias productoras de histamina, indicando que el desarrollo de las mismas estuvo favorecido en medios más básicos.

Los resultados dan cuenta que la forma cómo se manipularon estos productos pesqueros favorecieron la proliferación de bacterias indicadoras de calidad higiénica y de la formación de histamina. Es imperioso corregir esta situación, pues la salud de la población podría verse afectada, a la par que pudiera generarse una matriz de opinión que conllevaría el rechazo de los mismos. Se sugiere que los inspectores encargados de supervisar las embarcaciones y los mercados de pescado, implementen acciones tendentes a subsanar las deficiencias detectadas, especialmente las referidas a temperaturas de almacenamiento, limpieza y desinfección de superficies y utensilios así como la eliminación conveniente de vísceras y otros desechos de especies marinas.



**Figura 1. Promedios de los valores de histamina (mg/100 g) determinados en ruedas, filetes o trozos de cabaña pintada (*E. alletteratus*); jurel ojo gordo (*C. latus*); machuelo (*O. oglinum*); palometa (*Alectis crinitus*); sardina (*S. aurita*); atún albacora (*T. alalunga*); cabaña cariba o bonita (*S. sarda*); carite lucio (*S. cavalla*); palagar (*X. gladius*) y dorado (*C. hippurus*), expendidos en un mercado de pescado de la Isla de Margarita, Venezuela.**

## AGRADECIMIENTO

Nuestro agradecimiento al personal del Laboratorio de Microbiología (EDIMAR-FLASA) N Figueroa, Y Rodríguez y M León. Igualmente, al Dr. J Buitrago por la corrección del trabajo y apoyo en la aplicación de los análisis estadísticos, y a R Varela. También a D Quiñones por la traducción del Resumen. Especial agradecimiento a los evaluadores anónimos por la lectura crítica y sugerencias al manuscrito. **Nota:** Esta es la Contribución N° 423 de la Estación de Investigaciones Marinas de Margarita de Fundación La Salle de Ciencias Naturales y fue parcialmente subvencionada por CONOCO PHILLIPS y DIAGEO de Venezuela, en el marco de la LOCTI-MPPCTI.

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) Pascual-Anderson MR, Calderón y Pascual V. Microbiología alimentaria. 2 ed. Madrid, España: Díaz de Santos; 2000.
- (2) Shalaby AR. Significance of biogenic amines to food safety and human health. Food Res Int. 1996; 29(7): 675-690.
- (3) Anónimo, 2001. Scombrototoxina (histamina) formación. En: Fish and Fisheries Products Hazard and Controls Guidance, 3 ed. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Washington, D.C.
- (4) Bjornsdottir K, Bolton GE, McClellan-Green PD, Jaykus L-A, Green DP. Detection of Gram-negative histamine-producing bacteria in fish: A comparative study. J Food Prot. 2009; 72(9): 1987-1991.
- (5) Huss HH. Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros. FAO Documento Técnico de Pesca 334. Roma, Italia: FAO; 1997.
- (6) Lehane L, Olley J. Histamine fish poisoning revisited. Int J Food Microbiol. 2000; 58(1-2):1-37.
- (7) Dewaal CS, Hicks G, Barlow K, Alderton L, Vegosen L. Foods associated with food-borne illness outbreaks from 1990 through 2003. Food Prot Trends. 2006; 26(7): 466-473.
- (8) Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis; Oficina Panamericana de la Salud; Organización Mundial de la Salud. (2002, octubre 21) Resumen Estadístico: **Brotos de Enfermedades Transmitidas por Alimentos Ocurredos en los años; 1993-2002.** [Datos en Línea] En INPPAZ OPS/OMS: Sistemas de Información Regional para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Disponible en: <http://>

- [www.panalimentos.org/panalimentos/Acercade.htm](http://www.panalimentos.org/panalimentos/Acercade.htm) [Consultado 4 de junio de 2008]
- (9) Delgado R, Gutiérrez CJ, Hurtado A. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) de origen marino en Nueva Esparta. II. Características clínicas y etiológicas. Rev Inst Nac Hig "Rafael Rangel". 2003; 34(2):11-16.
- (10) Gutiérrez CJ, Delgado R, Hurtado A. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) de origen marino en Nueva Esparta. I. Características epidemiológicas. Rev Inst Nac Hig "Rafael Rangel". 2003; 34(2):6-10.
- (11) Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables y Fondo para el Desarrollo del Edo. Nva. Esparta (MARNR - FONDENE). Atlas básico del estado Nueva Esparta; 1997.
- (12) Frazier WC. Microbiología de los alimentos. 2 ed. Zaragoza, España: Edit. Acribia; 1976.
- (13) Norma Venezolana COVENIN 1126-1989. Alimentos. Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico (1ª. Revisión). Comisión Venezolana de Normas Industriales. Publicación de FONDONORMA. Caracas, Venezuela: Ministerio de Fomento; 1989.
- (14) Norma Venezolana COVENIN 902-1987. Alimentos. Método para recuento de microorganismos aerobios en placas de Petri (1ª. Revisión). Comisión Venezolana de Normas Industriales. Publicación de FONDONORMA. Caracas, Venezuela: Ministerio de Fomento; 1987.
- (15) Nickelson II R, Finne G. Fish, crustaceans and precooked seafoods. En: C. Vanderzant y DF Splittstoesser (ed). Compendium of methods for the microbiological examinations of foods. 3 ed. Washington, D.C.: American Public Health Ass; 1992. p. 875-895.
- (16) Kim SH, An H, Price RJ. Histamine formation and bacterial spoilage of albacore harvested off the U.S. Northwest Coast. J Food Sci. 1999; 64(2):340-343.
- (17) Liston J, Matches JR. Fish, crustaceans, and precooked seafoods. Chapter 40. En: ML Speck (ed). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Ass; 1976. p. 507-521.
- (18) Norma Venezolana COVENIN 1104:1996. Determinación del número más probable de coliformes, coliformes fecales y de *Escherichia coli* (2ª. Revisión). Comisión Venezolana de Normas Industriales. Publicación de FONDONORMA. Caracas, Venezuela: Ministerio de Fomento; 1996.
- (19) Niven CF, Jeffrey MB, Corlett DA. Differential plating medium for quantitative detection of histamine-producing bacteria. Appl Environ Microbiol. 1981; 41(1): 321-322.
- (20) Chen C-M, Wei CI, Koburger JA, Marshall MR. Comparison of four agar media for detection of histamine-producing bacteria in tuna. J Food Prot. 1989; 52(11): 808-813.
- (21) Post FJ. Laboratory manual for food microbiology and biotechnology. 2 ed. California, U.S.A.: Star Publishing Co; 1998.
- (22) International Commission Microbiological Specifications of Foods (ICMSF). Microorganisms in foods. 1. Their significance and methods of enumeration. 2 ed. Toronto, Canada: University of Toronto Press; 1978.
- (23) Norma Venezolana COVENIN 1315:1979. Alimentos. Determinación del pH (acidez iónica). Comisión Venezolana de Normas Industriales. Publicación de FONDONORMA. Caracas, Venezuela: Ministerio de Fomento; 1979.
- (24) Norma Venezolana COVENIN 3186-95. Productos del Mar. Determinación de Histamina. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Publicación de FONDONORMA. Caracas, Venezuela: Ministerio de Fomento; 1995.
- (25) Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis. 18<sup>th</sup> ed. Maryland, USA; 2005.
- (26) International Commission Microbiological Specifications of Foods (ICMSF). Microorganisms in foods 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. 2 ed. Univ. of Toronto Press. Canada: Blackwell Scientific Publications; 1986.
- (27) Ministerios de Industrias Ligeras y Comercio, de Agricultura y Tierras, de Salud y Desarrollo Social y de Alimentación. Resolución conjunta: Requisitos de información comercial y sanitaria que debe cumplir el atún en conserva y los productos a base de atún en conserva destinados al consumo humano en su etiqueta. Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela 38.246, agosto 9, 2005.
- (28) Ministerio de Agricultura y Cría (MAC) - Servicio Autónomo de los Recursos Pesqueros y Acuícolas (SARPA). Resolución 13: Normas sanitarias para la producción y comercialización de productos pesqueros. Gaceta Oficial de la República de Venezuela 4.689 Extraordinario, febrero 2, 1994.
- (29) Statistical Graphics Systems Corporation. User's guide Statgraphics. Version 6,0. U.S.A.: STSC., Inc.; 1992.
- (30) Food and Drug Administration (FDA). Scombrototoxin (histamine) formation. En: Fish and Fisheries Products Hazards and Control Guide. 2 ed. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood, Washington, DC; 1998.
- (31) Erkan N, Ozden O. Quality assessment of whole and gutted sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice. Int J Food Sci Technol. 2008; 43(9): 1549-1559.
- (32) Taylor SL. Histamine food poisoning: toxicology and clinical aspects. CRC Crit Rev Toxicol. 1986; 17 (2): 91-128.
- (33) Normas sobre buenas prácticas de fabricación, almacenamiento y transporte de alimentos para consumo humano.

- (Resolución SG-457-96 del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social). Gaceta Oficial de la República de Venezuela, 36.081, noviembre 07, 1996.
- (34) Staruszkiewicz WF, Barnett JD, Rogers PL, Benner RA, Wong LL, Cook J. Effects of on-board and dockside handling on the formation of biogenic amines in mahimahi (*Coryphaena hippurus*), skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*), and yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). J Food Prot. 2004; 67(1): 134-141.
- (35) Rosinvalli LJ, Baker II DW. Low temperature preservation of seafoods: A review. Mar Fish Rev. 1981; 43(4):1-15.
- (36) Kim S-H, Field KG, Chang D-S, Wei Chl, An H. Identification of bacteria crucial to histamine accumulation in pacific mackerel during storage. J Food Prot. 2001; 64(10): 1556-1564.
- (37) Tsai YH, Kung HF, Lee TM, Lin GT, Hwang DF. Histamine-related hygienic qualities and bacteria found in popular commercial scombroid fish fillets in Taiwan. J Food Prot. 2004; 67(2): 407-412.
- (38) Mavromatis P, Quantick PC. Modification of Niven's medium forming bacteria and discussion of the parameters associated with its use. J Food Prot. 2002; 65(3): 546-551.
- (39) Food and Drug Administration (U.S.FDA). 2001. Potential hazards in cold-smoked fish: biogenic amines. En: Processing parameters needed to control pathogens in cold smoked fish. Disponible en línea: <http://www.cfsan.fda.gov/~ocomm./ift2amin.html>. [Consultado 4 de junio de 2008]
- (40) Tzikas Z, Ambrosiadis I, Soultos N, Georgakis SP. Quality assessment of Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) and blue jack mackerel (*Trachurus picturatus*) during storage in ice. Food Control. 2006;18(10): 1172-1179.