

# EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y EL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO SOBRE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y LA PRODUCCIÓN DE HISTAMINA EN LA LISA (*Mugil curema*)

## Effect of Temperature and Storage Time on Microbial Quality and Histamine Production in Lisa (*Mugil curema*)

Rosimar Millán<sup>1</sup>, Pedro Izquierdo, María Allara, Gabriel Torres, Aiza García, Yasmina Barboza

Unidad de Investigación Ciencia y Tecnología de Alimentos (UDICTA), Facultad de Ciencias Veterinarias.

<sup>1</sup> Postgrado Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela.

E-mail: izquier@cantv.net ~ allara@mipunto.com

### RESUMEN

Se determinó el efecto de temperatura y tiempo de almacenamiento sobre la calidad microbiológica de lisa (*Mugil curema*). 20 ejemplares se almacenaron a 0, 6 y 25°C. Se tomaron muestras a 24, 48, 72 y 96 horas para realizar recuento de aerobios mesófilos (RAM) según COVENIN, concentración de histidina e histamina por HPLC, identificación de bacterias productoras de histamina por medio de Niven y pruebas bioquímicas. Los resultados mostraron que a 0°C no se detectaron diferencias significativas en RAM, mientras que a 6 y 25°C se detectaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) a partir de 96 y 24 horas respectivamente. La concentración inicial de histidina fue de 1333,9 partes por millón (ppm), que a 0°C varió hasta 2025,4, sin diferencias significativas. A 6°C disminuyó hasta 528,7, detectándose diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) a partir de 96 horas, mientras a 25°C disminuyó a 137,5 ppm, detectándose diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) a las 24 horas. A las temperaturas de 0 y 6°C las concentraciones de histamina fueron inferiores a 10,65 ppm; mientras que a 25°C se observaron incrementos significativos ( $P < 0,05$ ) a las 48 horas, alcanzándose una concentración final de 1288,7 ppm. El mayor porcentaje de bacterias productoras de histamina correspondió a la familia Enterobacteriaceae (62%). *Vibrio damsella* produjo la mayor concentración de histamina, 659 ppm. Se concluyó que el tiempo y la temperatura de almacenamiento afectan el RAM y la producción de histamina en la lisa, su almacenamiento a 0 y 6°C retarda la actividad bacteriana y limita la producción de histamina durante 96 horas.

**Palabras clave:** Lisa (*Mugil curema*), histamina, histidina, almacenamiento.

### ABSTRACT

Temperature and storage time effect on microbial quality in lisa (*Mugil curema*) were determined. Twenty (20) fish were stored at 0, 6 and 25°C during 96 hours. Samples were analyzed at 24, 48, 72 and 96 hours in order to count aerobic mesophilic bacteria (RAM) according to COVENIN methods, to determine histidine and histamine concentrations according to HPLC, to identify histamine producing bacteria using Niven's method, and to run biochemical tests. Results showed no significant differences for RAM at 0°C, while at 6 and 25°C significant differences were detected ( $P < 0.05$ ) at 96 and 24 hours respectively. Initial histidine concentration was 1333.9 parts per million (ppm). It increased at 0°C to 2025.4, but without significant differences. At 6°C it decreased to 528.7 ppm, showing significant differences ( $P < 0.05$ ) at 96 hours, while at 25°C it decreased to 137.5 ppm, and significant differences were detected ( $P < 0.05$ ) at 24 hours. At 0°C and 6°C histamine concentrations were below 10.65 ppm, while at 25°C there was concentration of 1288.7 ppm. Most of the histamine producing bacteria was Enterobacteriaceae with 62%. *Vibrio damsella* produced the highest histamine concentration, 659 ppm. It was concluded that time and storage temperature affect RAM and histamine production in Lisa. Storage at 0 and 6°C slows bacterial activity and limits histamine production during 96 hours.

**Key words:** Lisa (*Mugil curema*), histamine, histidine, storage.

### INTRODUCCIÓN

El pescado constituye un alimento esencial de la dieta de la población de Venezuela. Este país ocupa uno de los primeros lugares entre los productores pesqueros de América

[27], siendo el estado Zulia una fuente potencial para la industria pesquera ya que el Lago de Maracaibo aporta el 10,5% de la producción total nacional [21]; las principales especies capturadas en el Lago de Maracaibo son: corvina (*Cynoscion* sp), bocachico (*Prochilodus reticulatus*), bagre (*Sorubim* sp) y lisa (*Mugil* sp) [15, 16, 23].

El pescado es un alimento susceptible a ser degradado fácilmente, entre otros factores debido a condiciones ambientales, composición química, contenido de agua de sus tejidos así como su estructura histológica. Su carga microbiana depende de la flora localizada en la superficie corporal y de la contaminación microbiológica de los ambientes acuáticos [26].

La escombrototoxicosis o intoxicación por histamina es la forma más frecuente de intoxicación por consumo de pescado en el mundo y es causada por la ingestión de pescado escombroides y no escombroides [5], que presentan elevadas concentraciones de histidina libre en sus tejidos [4], y por productos pesqueros que han sufrido algún deterioro debido a bacterias que poseen la enzima histidina descarboxilasa [3, 9, 30, 31]. La histamina puede formarse sin que haya el olor característico de la descomposición, por lo que su concentración se ha propuesto como un índice químico del deterioro de pescados [20, 25].

La formación de escombrotoxinas es el resultado de un abuso de la relación tiempo/temperatura durante el almacenamiento de ciertas especies de pescado, a pesar que las bacterias productoras de histamina son capaces de crecer en un amplio rango de temperatura. Una vez que la histidina descarboxilasa ha sido formada, puede continuar la producción de histamina, aún si las bacterias no son viables, debido a que la enzima puede permanecer activa a temperaturas de refrigeración. Las intoxicaciones escombroides han sido asociadas principalmente con el consumo de atún (*Thunnus thynnus*), sardina (*Sardine pilchardus*) y macarela (*Scomber scombrus*), sin embargo existen otras especies capaces de desarrollar concentraciones elevadas de histamina cuando se abusa de la temperatura [31].

La temperatura y el tiempo de almacenamiento son muy importantes en la conservación del pescado pudiendo decirse que la vida útil de un producto pesquero es mayor a medida que disminuye la temperatura [30]. En el año 1996 se registraron en Caracas, Venezuela, 240 casos de personas con signos de intoxicación escombroides debido al consumo de atún en mal estado, presumiblemente causada por fallas en las cámaras o cubas de congelación que transportaban el pescado. 120 de los 240 casos registrados ocurrieron en un establecimiento de comida rápida, ameritando el 63% de ellos tratamiento médico inmediato [14].

La escombrototoxicosis constituye en los Estados Unidos de Norteamérica una de las principales formas de intoxicación por consumo de pescado [4, 19] y tal como lo ha reportado la Administración de Drogas y Alimentos (FDA), todos los huma-

nos son susceptibles a las intoxicaciones escombroides, sin embargo los síntomas pueden ser severos para las personas mayores y para aquellas que toman medicamentos como isoniazida [31].

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la temperatura y el tiempo de almacenamiento sobre la calidad microbiológica de la lisa (*Mugil curema*) a través del recuento de aerobios mesófilos, concentración de histidina e histamina por HPLC, así como también identificar las bacterias productoras de histamina.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestreo y preparación de la muestra

La muestra consistió en 20 ejemplares de lisa (*Mugil curema*) adquiridos en una venta ambulante de pescado fresco ubicada en Puerto Caballo, municipio Mara del estado Zulia.

Cada semana se seleccionaron al azar, ejemplares con un peso aproximado de 2,5 Kg. Una vez pesados, los pescados fueron descabezados, desviscerados y lavados con agua fría en un área aséptica para ser transportados en una bolsa térmica hasta el laboratorio.

Con un bisturí estéril se realizaron cortes en diferentes zonas del músculo; los trozos se mezclaron entre sí para separar 5 porciones de 11 g y 5 de 50 g con ayuda de una balanza de precisión Mettler® BD1201, para los análisis microbiológicos y químicos, respectivamente.

Los trozos de pescado fueron almacenados en bolsas plásticas estériles con cierre hermético, durante un período de 96 horas a las tres temperaturas estudiadas: 0, 6 y 25°C. Para la temperatura de 0°C se utilizó una cava Nordcold®, para 6°C una nevera Frigilux® y para 25°C se almacenaron en una campana de extracción.

A las 24, 48, 72 y 96 horas fueron retiradas las porciones de muestras correspondientes, asimismo, se tomó una muestra para establecer los parámetros iniciales al tiempo 0, que representa un lapso inferior a seis horas de captura del pescado, para realizar los siguientes ensayos:

### Recuento en placa de Aerobios Mesófilos (RAM)

Se realizó según la norma Covenin 902-82 [6]. Se prepararon diluciones seriadas entre  $10^{-2}$  y  $10^{-12}$ , de acuerdo al tiempo y la temperatura de almacenamiento. Así, a 0°C fueron de  $10^{-2}$  a  $10^{-4}$ , a 6°C de  $10^{-2}$  a  $10^{-5}$ , a 25°C (tiempo 0) de  $10^{-2}$  a  $10^{-5}$ , 24 a 48 horas de  $10^{-6}$  a  $10^{-8}$ , 72 horas de  $10^{-7}$  a  $10^{-10}$ , finalmente a las 96 horas de  $10^{-9}$  a  $10^{-12}$ .

Las placas inoculadas fueron incubadas en una incubadora Thelco GCA/Precision Scientific® a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas. El número de colonias presentes en las placas fue cuantificado con un contador de colonias Fisher®.

### Identificación de Especies Productoras de Histamina

Se emplearon agares selectivos y diferenciales de enterobacterias, agar Mac Conkey y agar Eosina Azul de Metileno. Se inocularon las placas con 0,1 mL de las diluciones con una espátula de Drigalsky estéril, y fueron incubadas en posición invertida, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas. Se identificaron las características morfológicas de las colonias, que fueron sembradas en tubos con agar Nutritivo, incubados a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 horas.

Con la finalidad de determinar la capacidad de las cepas, de descarboxilar la histidina en histamina, fueron inoculadas en Caldo de Niven modificado propuesto por Yoshinaga y col. [34], incubado a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas. La positividad de la reacción se observó por la formación de un anillo de color rojo en la parte superior del tubo y/o por la presencia de gas en el tubo Durham.

Las cepas que resultaron positivas en el medio de Niven fueron transferidas de agar Nutritivo a tubos de agar Conservación y se les realizaron pruebas bioquímicas para identificar la especie según Zinsser [35].

### Capacidad de Producción de Histamina por Bacterias Aisladas

Las cepas productoras de histamina, fueron inoculadas desde un tubo de agar Nutritivo incubado a  $37^\circ\text{C}$  por 24 horas a un tubo que contenía 9 mL de caldo de Sumner y Taylor modificado, el cual contiene 0,5% triptona; 0,5% NaCl, 0,25%  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  y 1% L-histidina, según la metodología descrita por López-Sabater y col. [19]. El pH final del medio fue ajustado a 5,3 utilizando un pHmetro Hanna Instruments® 8417.

Los tubos con el caldo inoculado fueron incubados a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 horas y repicados 1 mL de cada uno a tubos con 9 mL del mismo caldo. Estos últimos se incubaron a la misma temperatura durante 18 horas, para obtener un inóculo equivalente a aproximadamente  $10^8$  UFC/mL, que se comparó con el patrón N° 2 de McFarland.

El cultivo fue filtrado utilizando filtros de membrana de nylon con poros de 0,22  $\mu\text{m}$  Sigma® y almacenado a  $-18^\circ\text{C}$  en tubos de ensayo para determinar la concentración de histamina mediante la técnica de HPLC.

Todos los medios de cultivo y reactivos utilizados pertenecen a la casa Merck®, Alemania.

### Determinación de las Concentraciones de Histidina e Histamina por HPLC

Se realizó según la técnica de Gouygou y col. [12], que implica la extracción con Ácido Tricloroacético al 10% y filtrado del extracto. Este filtrado fue derivatizado, al igual que los estándares de histidina e histamina Sigma®, en medio alcalino con OPA (Ftalaldehído, Riedel de Haën®) al 1% y luego acidificado.

Los estándares y cada una de las muestras derivatizadas fueron inyectadas en un cromatógrafo líquido de alta reso-

lución Shimadzu® LC-6 A, integrado por un inyector manual Rheodyne®, una bomba (condiciones isocráticas), un detector de fluorescencia FLD-6 A, una columna Beckman ODS  $5 \mu\text{m}$  de 4,6 mm de diámetro interno x 15 cm de largo. La fase móvil estuvo constituida por agua con 50 mmoles de fosfato monobásico de sodio y 40% de acetonitrilo, con un flujo de 1,2 mL/min. El volumen de inyección fue 20  $\mu\text{L}$ . Todos los datos fueron procesados con el software Class VP.

Para determinar la concentración de histidina e histamina, se comparó el tiempo de retención de cada muestra y del estándar de referencia para obtener el área y calcular la concentración del analito. Se realizaron un total de 45 corridas.

### Análisis Estadístico

El diseño experimental correspondió a un factorial  $5 \times 3$ , donde los factores fueron tiempo a 5 niveles y la temperatura a 3 niveles. Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA), al encontrar diferencias significativas entre tratamientos se utilizó la prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0,05. Se utilizó como herramienta estadística el software Statistix [7, 28].

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Recuento de aerobios mesófilos

La FIG. 1 muestra el efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre el recuento de aerobios mesófilos

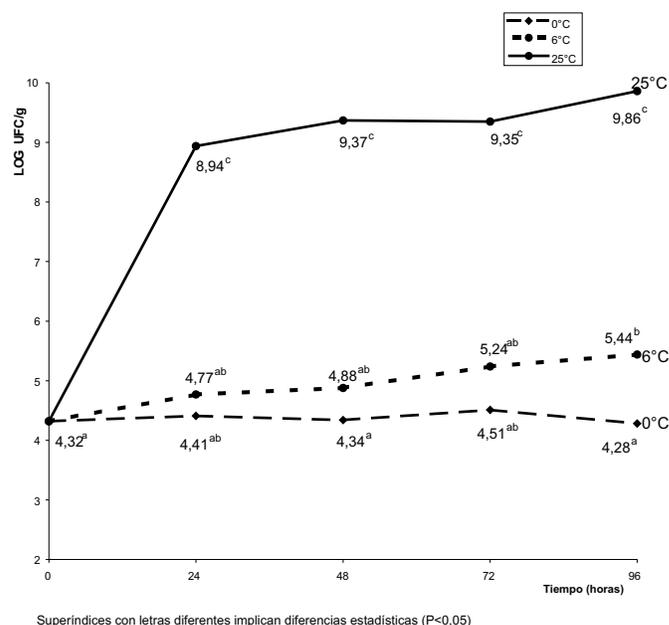


FIGURA 1. RECuento DE AEROBIOS MESÓFILOS (LOG UFC/g) EN LISA ALMACENADA A DIFERENTES TEMPERATURAS.

(RAM) expresado como log UFC/g, en la lisa (*Mugil curema*) almacenada a diferentes tiempos y temperaturas.

Los valores iniciales de 4,32, se encontraron por debajo de los límites establecidos por la Asociación Americana de Salud Pública (APHA) para pescado fresco, 5 log UFC/g a 20°C [1]. Mientras que Barboza y col. [2] reportaron valores de 5,77 en lisa salada, Izquierdo y col. [17] de 5,62 en la misma especie expandida bajo condiciones ambientales (28-30°C), por su parte Torres y col. [29] en corvina (*Cynoscion maracaiboensis*) incubada a 28°C encontraron un RAM de 5,90, siendo ambas especies del mismo hábitat.

El RAM a 0°C varió entre 4,32 en el tiempo 0 y 4,28 a las 96 horas, no se detectaron diferencias significativas; a 6°C varió entre 4,32 y 5,44, detectándose diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) a las 96 horas. Resultados similares han sido reportados por Frazier y col. [10], quienes plantean que las temperaturas bajas retardan el crecimiento y actividad de los microorganismos que se encuentran en los alimentos.

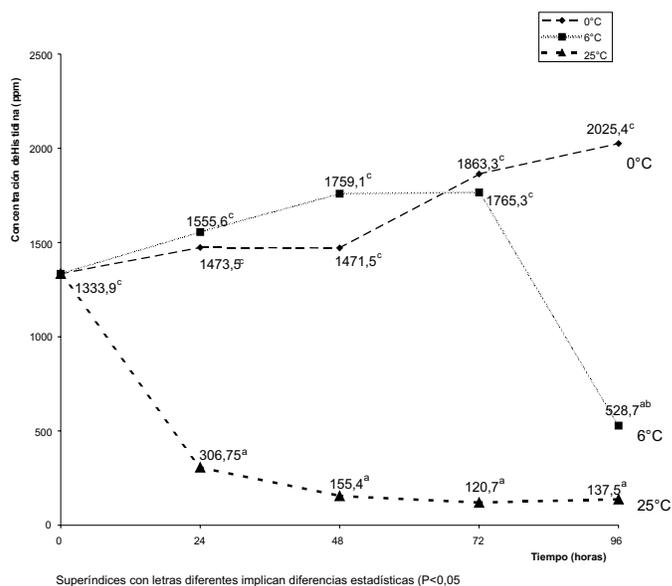
A 25°C, el RAM varió de 4,32 a 9,86, se obtuvieron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) a partir de 24 horas, esto puede ser debido a que esta temperatura favorece el desarrollo de especies bacterianas mesófilas que comienzan a degradar los nutrientes del pescado, produciendo metabolitos que alteran sus condiciones organolépticas, convirtiéndolo en producto no apto para el consumo humano [31].

### Concentración de Histidina

La FIG. 2 presenta la concentración de histidina, expresada como partes por millón (ppm), en lisa almacenada durante 96 horas a diferentes temperaturas. La concentración inicial fue 1333,9, inferior a la reportada para una especie del mismo género (*Mugil cephalus*), de 2060 ppm y otros géneros como macarela (*Trachurus japonicus*) 2890 ppm, anchoa (*Engraulis japonicus*) 4810 ppm, atún ojos grandes (*Tunnus obesus*) 7450 ppm y atún skipjack (*Katsuwonus pelamis*) 5780 ppm, éstos dos últimos de la familia *Scombroidae* que se caracterizan por poseer altas concentraciones de histidina libre [13, 31, 34].

A 0°C, la concentración de histidina (ppm) varió en el tiempo de un valor inicial de 1339,9 hasta 2025,4 a las 96 horas, sin observarse diferencias significativas. A 6°C se produjo un incremento en la concentración de histidina hasta las 72 horas, tiempo a partir del cual se produjo un descenso significativo ( $P < 0,05$ ) a un valor de 528,7. Esto posiblemente sea debido a la descarboxilación del aminoácido, por actividad bacteriana, con la formación de histamina. Mientras que a 25°C el tiempo afectó significativamente ( $P < 0,05$ ) la concentración de histidina que disminuyó a 306,75 en las primeras 24 horas, lo cual podría estar relacionado con el desarrollo inicial de especies bacterianas productoras de histamina [3, 9, 30, 31].

Torres y col. [29] reportaron que la concentración de histidina libre en corvina (*Cynoscion maracaiboensis*) almacenada durante 48 horas a 4 y 10°C estuvo entre 150 y 500 ppm,



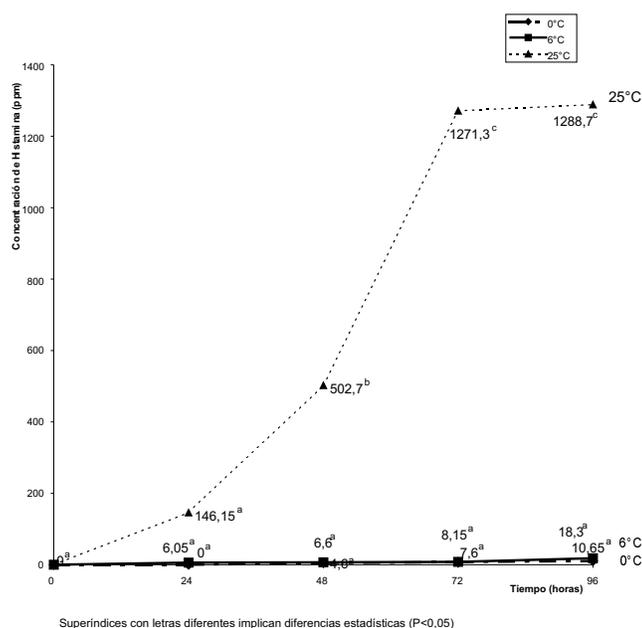
**FIGURA 2. CONCENTRACIÓN (ppm) DE HISTIDINA EN LISA ALMACENADA A DIFERENTES TEMPERATURAS.**

estos valores presentaron diferencias significativas al compararlos con muestras almacenadas a 28°C (entre 300 y 1000 ppm), siendo inferiores a las encontradas en esta investigación a las 96 horas de almacenamiento, a las temperaturas de 0 y 6°C, probablemente debido a diferencias de especie. Sin embargo, tal como señala la FDA, cualquier alimento que contenga los aminoácidos apropiados y esté sujeto a contaminación bacteriana, puede provocar intoxicaciones escombroides cuando es ingerido [30, 31].

### Concentración de Histamina

La FIG. 3, presenta la concentración de histamina, expresada en ppm, en la especie lisa (*Mugil curema*) almacenada durante 96 horas a diferentes temperaturas. A 0°C, la histamina fue detectada a partir de 48 horas de almacenamiento, con una concentración de 4,6 que a las 96 horas se incrementó a 10,65, mientras que a 6°C los valores estuvieron entre 6,05 a las 24 horas y 18,3 a las 96 horas, sin que se presentaran diferencias significativas durante el almacenamiento. Estos valores están dentro de las regulaciones permitidas a nivel nacional que son 100 ppm [11], y a nivel internacional que son 50 ppm [30] y son similares en relación al valor correspondiente a las 96 horas y a 0°C, con la concentración inicial reportada por Torres y col. [29] en Corvina (*Cynoscion maracaiboensis*), 11 ppm. En el mismo trabajo se indica que algunos autores [19] reportan concentraciones iniciales de histamina que no exceden 20 ppm.

Se ha reportado que el uso de temperaturas inferiores de 5°C, es recomendable para disminuir la formación de histamina, bajo estas condiciones el pescado presenta concentraciones que no exceden las 5 ppm [8]. La producción de histamina durante el almacenamiento a 0 y 6°C, puede ocurrir debi-



**FIGURA 3. CONCENTRACIÓN (ppm) DE HISTAMINA EN LISA ALMACENADA A DIFERENTES TEMPERATURAS.**

do a la actividad de bacterias psicrófilas entre las cuales existen algunas especies formadoras de histamina [20, 24]. Esto coincide con lo reportado por Mossel y col. [22] en cuanto a que los alimentos almacenados a temperaturas de refrigeración se alteran con el tiempo por la multiplicación de microorganismos psicrófilos y psicotróficos.

A 25°C se observó un incremento de la concentración de histamina desde valores iniciales no detectables hasta 1288,7, el análisis estadístico ( $P < 0,05$ ) mostró diferencias significativas a partir de 48 horas, esto podría deberse al incremento de la concentración de histidina libre por efecto del aumento de la temperatura [29]. Las concentraciones de histamina alcanzadas a partir de las 48 horas representan un riesgo para la salud debido a que está asociado al desarrollo de reacciones en personas sensibles, considerando que la histamina es una toxina termoresistente y que las características organolépticas de un pescado con elevadas concentraciones de histamina pueden ser enmascaradas [22, 31].

La especie *Mugil* spp. no es clasificada como peligrosa por su contenido en histamina [32], a diferencia de otras especies como *Anchoa* sp, pez azul (*Pomatomus saltatrix*), Bonito (*Cybiosarda elegans*, *Gymnosarda unicolor*); Kahawai (*Arripis* spp), Mackerel (*Gasterochisma melampus*, *Grammatorcynus* spp), Mahi-mahi (*Coryphaena* sp.), sardinas (*Sardina pilchardus*, *Sardinops* sp, *Sardinella* sp).

#### Bacterias con capacidad de producción de histamina

La TABLA I muestra las especies bacterianas productoras de histamina en lisa. El mayor porcentaje corresponde a la familia Enterobacteriaceae con 62%, seguido por especies de

la familia Vibrionacea con 24%, y bacilos gram negativos no fermentadores de glucosa 14%.

La capacidad de formación de histamina en cada una de las especies aisladas fue variable, *Vibrio damsella* produjo la mayor concentración de histamina (659 ppm), seguido por *Escherichia coli* (432 ppm), *Acinetobacter* sp (309 ppm) y *Klebsiella pneumoniae* (301 ppm), la especie que mostró menor capacidad de formación de histamina fue *Aeromonas veronii* (8 ppm), especie reportada en lisa por Izquierdo y col. [17]. La concentración de histamina producida por las cepas bacterianas fue inferior a la detectada por López-Sabater y col. en 1994 [20] para algunas especies bacterianas aisladas de atún, en este estudio la mayor capacidad de producción de histamina fue para *Morganella morganii* (2728,6 ppm).

En la mayoría de los casos se produce la contaminación del pescado por prácticas higiénicas deficientes durante la captura (ej. *Enterobacter* sp.), o porque están frecuentemente asociadas con el ambiente marino (ej. *Vibrio*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*) [18]. Una de las especies que produce mayor concentración de histamina en pescado es *Klebsiella pneumoniae*, aunque no registran la presencia de vibrios [20, 33]. Sin embargo, la escasa ocurrencia de vibrios, puede deberse a que son difíciles de aislar cuando las temperaturas son menores a 15°C y mueren cuando el pescado es conservado entre 0 y 5°C [20].

Por otra parte, la especie más frecuentemente encontrada en lisa fue *Enterobacter* sp (21% de los aislamientos), lo que puede relacionarse con los resultados de López-Sabater y col. [20] donde esta especie fue la segunda con frecuencia de aislamiento en atún, ya que la de mayor recurrencia fue *Morganella morganii*.

#### CONCLUSIONES

La lisa presenta una calidad microbiológica aceptable al ser almacenada a 0 y 6°C por un período de tiempo de hasta 96 horas. A 25°C y a partir de las 24 horas de almacenamiento la carga microbiana se encuentra por encima de los límites máximos permisibles.

Las concentraciones iniciales promedio de histidina en lisa se encontraron en 1333,9 ppm a las temperaturas de 0,6 y 25°C, por lo tanto es potencialmente susceptible a presentar elevadas concentraciones de histamina.

El almacenamiento de lisa a 0 y 6°C retarda la actividad bacteriana y limita la producción de histamina durante un período de 96 horas, por lo que estas condiciones de temperatura y tiempo de almacenamiento de la lisa no representan un riesgo de toxicidad para el consumidor.

A 25°C, a partir de 24 horas de almacenamiento, se produce un incremento en la concentración de histamina a niveles considerados como tóxicos, esto puede traer problemas de salud.

**TABLA I**  
**ESPECIES BACTERIANAS AISLADAS DE LISA (*Mugil curema*) Y CAPACIDAD DE PRODUCCIÓN DE HISTAMINA**

Familia	Especie	Nº Aislados	%	Producción de Histamina (ppm)
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	3	10	158
	<i>Salmonella sp</i>	4	7	295
	<i>Hafnia alvei</i>	1	3	288
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	14	301
	<i>Escherichia coli</i>	1	3	432
	<i>Enterobacter sp</i>	6	21	262
	<i>Citrobacter sp</i>	1	3	257
	<b>Total</b>	<b>18</b>	<b>62</b>	
<i>Vibrionaceae</i>	<i>Aeromonas sp</i>	5	17	159
	<i>Aeromonas veronii</i>	1	3	8
	<i>Vibrio damsella</i>	1	3	659
	<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>24</b>	
<i>Bacilos Gram (-) no fermentadores de glucosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	7	246
	<i>Acinetobacter sp</i>	4	7	309
	<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>14</b>	

Las enterobacterias productoras de histamina en lisa fueron *Enterobacter*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hafnia alvei*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Citrobacter* y *Salmonella*.

De la familia *Vibrionaceae* se aislaron *Vibrio damsella* y especies de *Aeromonas*, que produjeron concentraciones variables de histamina en cultivos aislados.

Entre los bacilos Gram negativos no fermentadores de glucosa aislados y con capacidad de producción de histamina se encontraron *Acinetobacter* y *Pseudomonas*.

## RECOMENDACIONES

La lisa debe expenderse bajo condiciones controladas de tiempo y temperatura de almacenamiento, considerándose como condiciones ideales 0°C durante 96 horas o 6°C hasta por 72 horas.

Realizar estudios similares en otras especies de pescado de importancia comercial en Venezuela.

## AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES-LUZ), por el apoyo financiero para la realización del presente trabajo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Compendium of methods for the microbiological examination of food**. 107-108 pp. 1976.
- [2] BARBOZA, Y.; IZQUIERDO, P.; GONZÁLEZ, E.; TORRES, G.; MÁRQUEZ, E. Evaluación microbiológica y características químicas del pescado salado consumido en la ciudad de Maracaibo, Venezuela. **Revista Científica, FCV-LUZ**. IX (2): 134-137. 1999.
- [3] BELJAARS, P.; VAN DIJK, R.; JONKER, K.; SCHOUT, L. Liquid chromatographic determination of histamine in fish, sauerkraut, and wine: interlaboratory study. **J. AOAC Int.** 81 (5): 991-998. 1998.
- [4] BEN-GIGIREY, B.; CRAVEN, C.; AN, H. Histamine formation in albacore muscle analyzed by AOAC and enzymatic methods. **J. Food Sci.** 83 (2): 210-214. 1998.
- [5] CHIN, Y.; LUAN, H. Simultaneous analysis of biogenic amines in canned fish by HPLC. **J. Food Sci.** 56 (1): 158-160. 1991.
- [6] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). Norma Venezolana Covenin 902-78. **Alimentos. Método para recuento de microorganismos aerobios en placas de Petri. 1ª revisión**. Ministerio de Fomento. Caracas-Venezuela. Pp. 5. 1978.

- [7] DANIEL, W. **Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud**. Editorial Limusa. México. 415-455 pp. 1991.
- [8] DE SOUSA, V.; BUJAN, M. Las aminos biógenos como medida de la calidad de productos pesqueros. **Alimentaria**: 51-58 pp. 1991.
- [9] FRATTINI, V.; LIONETTI, C. Histamine and histidine determination in tuna fish samples using high-performance liquid chromatography. Derivatization with  $\alpha$ -phthalaldehyde and fluorescence detection or UV detection of "free" species. **J. Chrom.** 809: 241-245. 1998.
- [10] FRAZIER, W.; WESTHOFF, D. **Microbiología de los Alimentos**. Editorial Acribia, S.A. España. 522 pp. 1978.
- [11] GACETA OFICIAL DE LA REPÚBLICA DE VENEZUELA. **Normas Sanitarias para la Producción y Comercialización de Productos Pesqueros**. N. 4689. Capítulo X. Caracas-Venezuela. 5 pp. 1994.
- [12] GOUYGOU, J.; SINQUIN, C.; DURAND, P. High pressure liquid chromatography determination of histamine in fish. **J. Food Sci.** 52 (4): 925-927. 1987.
- [13] GUTIÉRREZ, M. **Producción de histamina en pescado. Condiciones microbiológicas y bioquímicas. Métodos de cuantificación**. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias (Seminario de Grado). 3-14 pp. 1989.
- [14] JIMÉNEZ, L. **Comercialización e industrialización de atún en Venezuela y el mundo (1985-1996)**. Escuela de Biología. Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Seminario de Grado. 89 pp. 1996.
- [15] IZQUIERDO, P.; TORRES, G.; GONZALEZ, E.; BARBOZA, Y.; MÁRQUEZ, E.; ALLARA, M. Composición de ácidos grasos y contenido de humedad en doce especies de pescado de importancia comercial en Venezuela. **Revista Científica FCV-LUZ**. IX (6): 463-468. 1999.
- [16] IZQUIERDO, P.; TORRES, G.; BARBOZA, Y.; MÁRQUEZ, E.; ALLARA, M. Análisis proximal, perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales y contenido de minerales en doce especies de pescado de importancia comercial en Venezuela. **Arch. Lat. Nut.** 50 (2): 187-194. 2000.
- [17] IZQUIERDO, P.; ALLARA, M.; TORRES, G.; FERNÁNDEZ, A.; PAULINKEVICIUS, M.; FUENMAYOR, J. Bacterias productoras de histamina en tres especies de pescado. **Revista Científica FCV-LUZ**. XI (5): 431-435. 2001.
- [18] LÓPEZ-SABATER, E.; MORA-VENTURA, M.; RODRÍGUEZ-JEREZ, R.; ROIG-SAGUEZ, M. Determination of histamine in fish using an enzymatic method. **Food Add. Cont.** 10(5): 593-602. 1993.
- [19] LÓPEZ-SABATER, E.; RODRÍGUEZ-JEREZ, J.; HERNÁNDEZ-HERRERO, M.; ROIG-SAGUÉS, A.; MORA-VENTURA, M. Sensorial quality and histamine formation during controlled decomposition of tuna (*Thunnus thynnus*). **J. Food Prot.** 59 (2): 167-174. 1995.
- [20] LÓPEZ-SABATER, E.; RODRÍGUEZ-JEREZ, J.; ROIG-SAGUÉS, A.; MORA-VENTURA, M. Bacteriological quality of tuna fish (*Thunnus thynnus*) destined for canning: effect of Tuna handling on presence of histidine decarboxylase bacteria and histamine level. **J. Food Prot.** 57 (4): 318-323. 1994.
- [21] MARCANO, L. La investigación en el área de la pesca y de la agricultura marina en el Fonaiap. **Fonaiap** 51: 29-31. 1996.
- [22] MOSSEL, D.; MORENO, G. **Microbiología de los Alimentos**. Editorial Acribia, S.A. España. 375 pp. 2000.
- [23] NOVOA, D.; MENDOZA, J.; MARCANO, L.; CÁRDENAS, J. **Atlas Pesquero Marítimo de Venezuela**. SARPA. 138-139 pp. 1998.
- [24] OKUZUMI, M.; OKUDA, S.; AWANO, M. Isolation of psychrophilic and halophilic histamine-forming bacteria from *Scomber japonicus*. **Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.** 47: 1591. 1981.
- [25] PAN, B.; JAMES, D. Histamine in marine products: production of bacteria, measurement and prediction of formation. **FAO Fish Tech. Papers.** 252: 62. 1985.
- [26] PÉREZ, L. **Higiene y Control de los Productos de la Pesca**. CECSA. México. 53-67, 101-121 pp. 1985.
- [27] ROBAINA, G. El Potencial Pesquero Venezolano. **Carta Ecológica**. 73: 10-12. 1995.
- [28] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS). **User's guide. SAS**. Version 5. Cary, North Caroline. USA. 494 pp. 1985.
- [29] TORRES, G.; IZQUIERDO, P.; MÁRQUEZ, E.; SÁNCHEZ, E.; BARBOZA, Y. Efecto de la temperatura y el tiempo sobre la carga bacteriana, concentración de histidina libre y la producción de histamina en el músculo de la corvina (*Cynoscion maracaiboensis*). **Revista Científica FCV-LUZ**. X (2): 130-135. 2000.
- [30] U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Center for Food Safety & Applied Nutrition. Fish and fisheries products. Hazards and controls guide. Appendix 5. **FDA and EPA Guidance Levels**. 276 pp. 1998.
- [31] U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION (FDA). Center for Food Safety & Applied Nutrition. Chapter 7. **Scombrotoxin (Histamine) Formation**. 77-92 pp. 1998.
- [32] U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Center for Food Safety & Applied Nutrition. **Fish and fisheries products. Hazards and controls #12. Pathogen**

- Growth and toxin formation as a result of Time/Temperature abuse. (A Biological Hazard).** 133-150 pp. 1998.
- [33] VALLS, J. **Estudio de Metodologías por Cromatografía en Capa Fina y Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia para la Determinación de Aminas Biógenas en Productos Pesqueros.** Universidad Central de Venezuela. Trabajo de Ascenso. Caracas. 156 pp. 1996.
- [34] YOSHINAGA, D.; FRANK, H. Histamine-producing bacteria in decomposing Skipjack Tuna (*Katsuwonus pelamis*). **App. Environm. Microbiology.** 44 (2): 447-452. 1982.
- [35] ZINSSER, J. **Microbiología.** Cap. 2. Ed. Panamericana. Buenos Aires. Argentina. 20° Edición. 1.696 pp. 1992.