

Estudio de la estabilidad microbiológica de la barracuda a través del tiempo de almacenaje en Costa Rica

Dayana Álvarez, Manuel Jiménez-Díaz, María Laura Arias-Echandi

Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica
Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET), Universidad de Costa Rica.

RESUMEN. En el presente estudio se evaluaron algunos de los cambios microbiológicos y bioquímicos producidos en una especie de pez de consumo frecuente en Costa Rica, como lo es la barracuda *Sphyraena ensis*. Se evaluaron muestras de barracuda obtenidas durante la estación lluviosa y durante la estación seca. A cada una de éstas se le realizó un recuento aerobio psicrófilo, recuento e identificación de *Vibrio*, *Enterococcus* y *Pseudomonas* durante 6 días de almacenaje a dos temperaturas, 2 y 7°C. Así también, se le realizó a cada una, la evaluación de la concentración de histamina producida mediante un inmunoensayo enzimático comercial. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que se da un incremento en los recuentos obtenidos a través del tiempo de almacenaje, dicho crecimiento es mayor al aumentar la temperatura de refrigeración. La mayoría de muestras mantenidas a 7°C presentan recuentos superiores a 106 UFC/g luego de tres días de almacenaje, situación que no se presenta en las muestras mantenidas a 2°C. No obstante, luego de 6 días de almacenaje, todas las muestras, independientemente de la temperatura de almacenaje, sobrepasan este valor. De la misma manera, se da un incremento en la concentración de histamina producida a través del tiempo de almacenaje, especialmente al conservar el producto a mayor temperatura debido al aumento de bacterias capaces de descarboxilar la histidina. No existe una diferencia estadísticamente significativa entre los recuentos obtenidos en estación lluviosa con respecto a la estación seca, no obstante, sí existe una diferencia con respecto a los géneros bacterianos aislados.

Palabras clave: *Sphyraena ensis*, barracuda, estabilidad microbiológica histamina.

SUMMARY. Microbiological stability through storage period of *Sphyraena ensis* in Costa Rica. At the present study some of the microbiological and biochemical changes that occur through storage period in *Sphyraena ensis*, a fish specie of frequent consumption in Costa Rica were studied. Samples of *S. ensis* obtained during rainy and dry season were evaluated. Analysis included aerobic psychrotrophic count, identification and count of *Vibrio*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* through a six day storage period at two different refrigeration temperatures, 2 and 7°C. Same time, a commercial enzymatic immunoassay was used for the evaluation of the variation on the concentration of histamine produced in the different samples. Results obtained show that there is an increase on the bacteriological counts through the storage period, this increase is bigger as refrigeration temperature increases. Most of the samples maintained at 7°C showed counts above 106 CFU/g after three days of storage, those stored at 2°C did not present such high population levels. Nevertheless, after 6 days of storage, all samples, despite the storage temperature used, presented levels above the described one. Also, an histamine concentration increased through storage time, especially when the product was conserved at the higher temperature due to an increase in the number of histidine descarboxilating bacteria. There is no statistical difference between the counts obtained during rainy or dry season; nevertheless, there is a difference associated to the bacterial genera isolated.

Key words: *Sphyraena ensis*, microbiological stability, histamine

INTRODUCCIÓN.

El sector pesquero y acuícola en Costa Rica tiene una gran importancia social y económica como fuente generadora de divisas. Su aporte el Producto Interno Bruto se estima en un 0,75% (1) además de que contribuye, de manera significativa, al empleo en áreas marginales y económicamente deprimidas del país.

El pescado, es un alimento perecedero, su tasa de descomposición está principalmente influenciada por la actividad microbiana(2). La microflora inicial de éste, la cual eventualmente será la responsable de su deterioro, depende del ambiente de procedencia, la estación del año, el método de pesca y las condiciones de almacenamiento que se den al producto, entre otras (3). Los géneros bacterianos tradicionalmente asociados al

deterioro de este producto son psicrotrofos, destacándose *Pseudomonas*, *Shewanella* y *Photobacterium phshporeun*. (4,5).

El deterioro bioquímico del pescado está dado, principalmente, por la producción de aminas biógenas. En el pescado fresco, el contenido de éstas es muy bajo, sin embargo, aumentan a medida que avanza su deterioro (6). La histamina es una amina biogénica aromática (7) que se forma en el pescado post mortem por descarboxilación bacteriana del aminoácido histidina. La ingestión de alimentos con altos niveles de histamina es asociada a intoxicación química en los seres humanos, no obstante, a nivel mundial no existe un claro consenso con respecto a los niveles de histamina máximos aceptables para el consumo. (8).

En Costa Rica, en la región puntarenense en particular, se explota el recurso pesquero artesanal con la extracción de diferentes variedades entre las que se destaca la barracuda (*Sphyraena ensis*), una especie pelágica cuya distribución va desde 16° 00'N hasta 06° 00'S en Océano Pacífico Oriental, y que se encuentra cerca de la superficie y hasta los 33 m de profundidad (1). El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la temperatura de almacenaje sobre los cambios microbiológicos que ocurren en este tipo de pez a través de su tiempo de almacenaje.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó pescado entero, eviscerado y fresco. Se consideró únicamente la barracuda (*Sphyraena ensis*) proveniente de Puntarenas directamente del pescador, con el fin de garantizar una captura menor a 12 h. El pescado fue transportado en hielo y en menos de 24 h al Laboratorio de Microbiología de Alimentos, Universidad de Costa Rica.

Se analizaron 5 barracudas completas, únicamente evisceradas, en estación seca y 5 en estación lluviosa. Cada muestra fue almacenada durante 6 días a 2 y 7°C en bolsas plásticas estériles. Los análisis fueron realizados durante el primer, tercer y sexto día de almacenaje (9).

Determinaciones microbiológicas.

Recuento aerobio psicrófilo.

Se pesaron 25 g de cada muestra (piel y músculo) y se diluyeron en 225 mL de agua peptonada estéril 0.1 % (APE). Se realizaron diluciones decimales hasta 10⁻⁴ en APE 0.1 % y a partir de cada una se inocula-

ron, por vaciado, platos de Agar Estándar + TTC (2,3,5 cloruro de trifeniltetrazolium) que se incubaron a 7°C por 6 días en atmósfera aerobia.(9)

Recuento de Enterococos, Pseudomonas y Vibrio (9).

Para el recuento de, Enterococos y *Pseudomonas* se siguió la metodología establecida por Pouch 2001; utilizando agar Eva (ethyl-violet-agar) y Cetrimida respectivamente. 0,1 mL de las diluciones previamente preparadas fueron esparcidas en los respectivos medios de cultivo. Las placas de agar Eva fueron incubadas a 35°C durante 48 horas y las de agar Cetrimida a temperatura ambiente por 48 horas,

Para el recuento de Vibrios, las diluciones iniciales fueron realizadas en APE + 3% NaCl. Se utilizó agar TCBS incubado a 35°C por 48 h para su respectivo aislamiento.

Las colonias seleccionadas a partir de cada medio de cultivo fueron mantenidas en CICC + glicerol en congelación a -70°C hasta el momento de la identificación. La identificación de los géneros bacterianos se efectuó utilizando el sistema automatizado Vitek Legacy

Determinación de la concentración de histamina.

Se utilizó el ensayo inmunoenzimático RIDAS-CREEN® Histamin 96 de r-Biopharm.

Brevemente, tanto las muestras como controles deben ser inicialmente acilados. A partir de cada solución acilada, se añaden 25,0 µL de en diferentes pocillos de la placa de reacción, a los cuales se les añade 100,0 µL del reactivo de anticuerpos antihistamina. Posterior a la incubación y lavados se agrega 100 µL de conjugado. Se repite la incubación y lavados. Seguidamente se agregan 100 µL de la solución sustrato-cromógeno. Se determina la absorbancia a 450 nm

Análisis estadístico

La prevalencia y comportamiento de las diferentes bacterias se estudió utilizando la estadística descriptiva. El análisis estadístico de los resultados se hizo utilizando ANOVA.

RESULTADOS

Las Tablas 1 y 2 muestran los resultados para la evaluación microbiológica de las poblaciones bacterianas presentes en la picuda, en estación seca y llu-

viosa durante su almacenamiento en refrigeración por 6 días. El 70% de las muestras almacenadas a 7°C presentó un recuento total psicrófilo superior a 106 a partir del día 3 de almacenaje, y el 100 % de las muestras mantenidas a 2 y 7°C superaron este valor luego del sexto día de almacenaje. No existe diferencia estadística entre los recuentos psicrófilos obtenidos al comparar la estación seca y la lluviosa ($p < 0,05$)

Las especies más frecuentemente aisladas durante la estación lluviosa fueron *Providencia rettgeri* (15,6%), *Staphylococcus aureus* coagulasa negativa (12,5 %) y *Pseudomonas putida* (9,4%). No se aisló ningún *Vibrio* durante esta época. Durante la estación seca, las especies aisladas con mayor frecuencia fueron *Pseudomonas putida* (21,85%) y *Aeromonas hydrophila* (8,8%). *Vibrio alginolyticus* (4,3%).

Un aspecto importante de mencionar es que las bacterias aisladas e identificadas se mantuvieron cons-

tantes a lo largo del almacenaje y a las dos temperaturas evaluadas.

Con respecto a la producción de histamina, se encontró una tendencia a su aumento asociado al transcurso de los días de almacenamiento (Tabla 3). Este aumento fue mayor al aumentar la temperatura de almacenamiento. No obstante, no existe una diferencia estadística entre la histamina producida a 2°C y a 7°C al día 6 de almacenamiento ($p > 0,05$).

Las concentraciones de histamina obtenidas estuvieron dentro de los intervalos de valores permitidos para el consumo humano (50 ppm para pescado fresco y de 200 ppm para pescado enlatado (8).

DISCUSIÓN

En general, el comportamiento de los recuentos bacterianos obtenidos a partir de las muestras de

TABLA 1
Recuentos bacterianos correspondientes a los días 1, 3 y 6 de almacenamiento a dos diferentes temperaturas, de las muestras recolectadas durante la estación lluviosa del año.

Muestra	Microorganismo	Recuentos día 1 (UFC/g)	Recuentos día 3 (UFC/g)		Recuentos día 6 (UFC/g)	
			2°C	7°C	2°C	7°C
1	Enterococos	2,2 x 10 ³ *	2,5 x 10 ³	8,7 x 10 ³	1,0 x 10 ⁵ *	6,2 x 10 ⁵ *
	Vibrio	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
	Pseudomonas	< 100*	< 100	4,5 x 10 ²	1,7 x 10 ⁴ *	7,2 x 10 ⁴ *
	Psicrófilos aerobios	1,0 x 10 ² *	2,3 x 10 ⁴	1,0 x 10 ⁶	> 5,6 x 10 ⁷ *	> 5,6 x 10 ⁷ *
2	Enterococos	< 100 *	< 100	6,0 x 10 ²	1,0 x 10 ³ *	5,4 x 10 ³ *
	Vibrio	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
	Pseudomonas	< 100 *	< 100	1,8x10 ⁴	4,8 x 10 ⁵ *	4,2 x 10 ⁶ *
	Psicrófilos aerobios	1,0 x 10 ² *	2,9 x 10 ⁴	1,7 x 10 ⁶	> 5,6 x 10 ⁷ *	> 5,6 x 10 ⁷ *
3	Enterococos	1,0 x 10 ³	6,6 x 10 ³	2,2 x 10 ³	3,5 x 10 ⁴	6,2 x 10 ⁴
	Vibrio	< 100 *	< 100	< 100	1,6 x 10 ⁴ *	2,0 x 10 ²
	Pseudomonas	3,0 x 10 ² *	3,8 x 10 ³	6,4 x 10 ³	1,2 x 10 ⁶ *	7,1 x 10 ⁶ *
	Psicrófilos aerobios	5,0 x 10 ³ *	8,4 x 10 ³	6,1 x 10 ⁵	> 5,6 x 10 ⁷ *	> 5,6 x 10 ⁷ *
4	Enterococos	< 100 *	< 100	1,2 x 10 ⁷	2,9 x 10 ³	1,1 x 10 ⁷ *
	Vibrio	< 100 *	< 100	1,5 x 10 ⁶ *	< 100	> 5,6 x 10 ⁷ *
	Pseudomonas	7,0 x 10 ²	9,0 x 10 ²	4,4 x 10 ⁶	1,6 x 10 ⁵	2,4 x 10 ⁷
	Psicrófilos aerobios	8,8 x 10 ³ *	6,6 x 10 ⁴	> 5,6 x 10 ⁷ *	> 5,6 x 10 ⁷ *	> 5,6 x 10 ⁷ *
5	Enterococos	< 100 *	1,8 x 10 ³	1,2 x 10 ⁷	5,2 x 10 ³	2,2 x 10 ⁷ *
	Vibrio	< 100	1,0 x 10 ³	2,2 x 10 ⁷	1,3 x 10 ³	> 5,6 x 10 ⁷ *
	Pseudomonas	1,8 x 10 ³ *	1,1 x 10 ⁴	1,8 x 10 ⁷	1,9 x 10 ⁵ *	3,0 x 10 ⁷ *
	Psicrófilos aerobios	1,9 x 10 ⁴ *	1,8 x 10 ⁵	> 5,6 x 10 ⁷ *	> 5,6 x 10 ⁷ *	> 5,6 x 10 ⁷ *
Promedios de recuentos psicrófilos		6,6 x 10 ³ *	6,0 x 10 ⁴	> 2,3 x 10 ⁷ *	> 5,6 x 10 ⁷ *	> 5,6 x 10 ⁷ *

* $p < 0,05$

TABLE 2.
Recuentos bacterianos correspondientes a los días 1, 3 y 6 de almacenamiento a dos diferentes temperaturas, de las muestras recolectadas durante la estación seca del año.

Muestra	Medio	Recuentos día 1 (UFC)	Recuentos día 3 (UFC)		Recuentos día 6 (UFC)	
			2°C	7°C	2°C	7°C
1	Enterococos	< 100	<100	< 100	9,0 x 10 ²	1,9 x 10 ³
	Vibrio	6,0 x 10 ² *	3,4 x 10 ³	1,4 x 10 ⁴	2,5 x 10 ⁵ *	2,3 x 10 ⁶ *
	Pseudomonas	7,0 x 10 ² *	3,7 x 10 ³	1,5 x 10 ⁴	2,7 x 10 ⁵ *	4,4 x 10 ⁶ *
	Psicrófilos aerobios	4,6 x 10 ²	1,3 x 10 ⁴	2,7 x 10 ⁶	> 5,6 x 10 ⁷ *	> 5,6 x 10 ⁷ *
2	Enterococos	< 100	<100	< 100	1,8 x 10 ³	5,5 x 10 ³
	Vibrio	2,0 x 10 ²	7,0 x 10 ²	1,2 x 10 ³	1,1 x 10 ⁵	3,8 x 10 ⁴
	Pseudomonas	< 100 *	<100	2,0 x 10 ³	4,9 x 10 ⁵ *	6,1 x 10 ⁶ *
	Psicrófilos aerobios	1,8 x 10 ² *	3,3 x 10 ⁴	2,9 x 10 ⁶	> 5,6 x 10 ⁷ *	> 5,6 x 10 ⁷ *
3	Enterococos	< 100	<100	< 100	6,0 x 10 ²	8,6 x 10 ⁴
	Vibrio	< 100 *	<100	< 100	3,9 x 10 ⁴	1,7 x 10 ⁶ *
	Pseudomonas	< 100 *	1,0 x 10 ²	2,0 x 10 ²	3,5 x 10 ⁶ *	1,6 x 10 ⁷ *
	Psicrófilos aerobios	2,8 x 10 ² *	2,3 x 10 ⁴	1,0 x 10 ⁶	> 5,6 x 10 ⁷ *	> 5,6 x 10 ⁷ *
4	Enterococos	< 100 *	<100	< 100	5,6 x 10 ³	8,4 x 10 ⁶ *
	Vibrio	< 100 *	<100	< 100	1,8 x 10 ⁴	1,6 x 10 ⁷ *
	Pseudomonas	< 100 *	2,0 x 10 ²	< 100	2,3 x 10 ⁷	1,6 x 10 ⁷ *
	Psicrófilos aerobios	1,2 x 10 ² *	9,5 x 10 ⁴	5,6 x 10 ⁵	1,9 x 10 ⁷ *	> 5,6 x 10 ⁷ *
5	Enterococos	< 100 *	<100	< 100	9,9 x 10 ³	4,6 x 10 ⁶ *
	Vibrio	< 100 *	<100	< 100	8,6 x 10 ³	4,5 x 10 ⁶ *
	Pseudomonas	< 100 *	<100	< 100	3,6 x 10 ⁵ *	2,7 x 10 ⁶ *
	Psicrófilos aerobios	1,1 x 10 ³ *	4,7 x 10 ⁴	3,1 x 10 ⁵	3,4 x 10 ⁷ *	> 5,6 x 10 ⁷ *
Promedios de recuentos psicrófilos		4,3 x 10 ² *	4,4 x 10 ⁴	1,5 x 10 ⁶	> 5,6 x 10 ⁷ *	> 5,6 x 10 ⁷ *

*p < 0,05

TABLE 3.
Resultados del ensayo inmunoenzimático para la determinación cuantitativa de histamina producida en muestras recolectadas durante las estación lluviosa y seca del año durante su almacenamiento.

Muestra	Estación lluviosa			Estación seca		
	Histamina día 1 (ppm)	Histamina día 6 (ppm)		Histamina día 1 (ppm)	Histamina día 6 (ppm)	
		2°C	7°C		2°C	7°C
1	0,05	0,06	0,06	0,4	0,5	0,6
2	0,05	0,1	0,2	0,6	1,5	4,3
3	0,05	0,2	0,25	0,2	2	4,4
4	0,05	0,06	2,3	0,6	0,8	1,1
5	0,06	0,17	6,2	0,5	0,8	2,1

picuda almacenadas a dos temperaturas diferentes tiende al aumento en el número de UFC/g desde el primer día de almacenaje hasta el sexto, dándose una diferencia estadísticamente significativa entre estos (p<0,05). De la misma manera, la multiplicación bac-

teriana es mucho mayor a medida que aumenta la temperatura de almacenamiento. Estos datos coinciden con los expuestos por Gelman et al. 2001, quienes claramente establecen que la temperatura de almacenaje es el factor más significativo en la vida útil del pes-

cado, independientemente de el uso de agentes físicos o químicos de conservación (10)

Considerando los recuentos totales obtenidos, se puede concluir que la vida útil de la picuda, mantenida en refrigeración, no es mayor a los 7 días de almacenaje, en promedio. Este valor coincide con la vida útil reportada por Nunes et al. 1992 en *Sardina pilchardus* (9 días a 0°C) (11) así como por Scott et al. 1992 en peces de aguas profundas (8 días a 0°C) (12).

La identificación bacteriana realizada permite predecir que el deterioro de las muestras puede atribuirse principalmente a los géneros psicrotrofos presentes, incluyendo *Pseudomonas*, *Vibrio alginolyticus*, *Acinetobacter*, *Serratia*, *Enterobacter* y *Streptococcus*; entre otros. No obstante, otras bacterias Gram positivas y Gram negativas también son capaces de crecer en el pescado durante su almacenamiento tal y como lo demuestran los estudios de Shin Hee et al. 2001 (13). Cabe destacar el aislamiento *Pseudomonas* putida a partir de la mayoría de las muestras analizadas, especie de gran importancia debido a su naturaleza psicrotrófica y a su capacidad para metabolizar sustancias presentes en el tejido del pescado, lo cual resulta en la liberación de metabolitos asociados a la pérdida de propiedades organolépticas del producto (14).

A pesar de que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los recuentos obtenidos en estación lluviosa con respecto a la estación seca, sí se observó una diferencia con respecto a los géneros bacterianos aislados. Mientras que no se dio aislamiento de especies de *Vibrios* en las muestras que fueron capturadas durante la estación lluviosa, durante la estación seca se lograron aislar en 4,3% de las muestras. Lo anterior permite asumir que la disminución en la temperatura del agua durante la estación lluviosa se convierte en un factor selectivo para la multiplicación de estas especies, tal y como lo refiere Belkin & Colwell 2005 es sus estudios referidos a patógenos de origen marino. (15).

La alta frecuencia de aislamiento de *Providencia rettgeri* a partir de las muestras de pescado crudo también ha sido documentada en diversos trabajos, no obstante, existe el consenso de que esta bacteria no forma parte de la flora normal del pescado y su presencia demuestra que existió una contaminación del pescado desde su captura (8), situación muy probable en el presente estudio.

Es evidente el incremento en la concentración de

histamina producida a través del tiempo de almacenaje, especialmente al conservar el producto a mayor temperatura (7°C). Existe concordancia en diversos estudios acerca de la formación de histamina aún a temperaturas moderadas entre 4°C y 10°C, sin embargo ésta puede verse limitada a niveles muy bajos; mientras que su producción es más rápida a temperaturas mayores de 21°C (16,17).

Las concentraciones de histamina obtenidas durante el almacenaje del producto no llegaron a sobrepasar los límites propuestos como causantes de intoxicación. Al respecto, no existe un consenso mundial; los países que comprenden la Comunidad Económica Europea establecen un nivel máximo promedio de histamina de 100 ppm; mientras que de acuerdo a la Guía de la FDA se establece que los niveles de histamina deben ser a lo sumo de 50 ppm para pescado fresco y de 200 ppm para pescado enlatado (8). En todo caso la prueba de que la histamina cause o no la enfermedad es muchas veces circunstancial, pues se han encontrado de forma coherente niveles altos de histamina en muestras relacionadas con brotes, no obstante, una ingestión alta de histamina no siempre causa la enfermedad (16). Lo anterior debido a que algunos componentes de los alimentos pueden potenciar la absorción y la acumulación plasmática de la histamina o bien, la presencia de otras aminas biógenas como la tiramina, β -feniletilamina, triptamina, putrescina o cadaverina puede incrementar los efectos adversos de la histamina (8, 16).

Este trabajo representa un primer esfuerzo por valorar cualitativa y cuantitativamente la flora inicial y de deterioro de una de las especies de pescado de mayor consumo en Costa Rica. La información provista permitirá diseñar métodos de conservación que permitan aumentar la vida útil de este producto, lo cual representa un beneficio tanto para el productor como para el consumidor.

REFERENCIAS

1. Flores L. La producción de pescado en Costa Rica, Perfil productivo y comercial. PROCOMER. 2011. En línea. www.infopesca.org/articulos_pesca_tica.pdf. Consultado el 5 de enero, 2011.
2. Ray B. Fundamental Food Microbiology. CRC Press, third edition. 2004.

3. Spanggaard B, Huber I, Nielsen J, Nielsen T, Appel K & Gram L. The microflora of rainbow trout intestine: A comparison of traditional and molecular identification. *Aquaculture*. 2000. 182: 1–15.
4. Dalgaard P, Madsen H, Samieian N, & Emborg J. Biogenic amine formation and microbial spoilage in chilled garfish – effect of modified atmosphere packaging and previous frozen storage. *J Applied Microbiol*. 2006. 101: 80–95
5. Adams M. & Moss M. *Food Microbiology*. Royal Society of Chemistry. 3rd ed. 2008
6. Halász A, Baráth A, Simon-Sarkadi L & Holzapfel W. Biogenic amine and their production by microorganisms in food. *Trends Food Science Technology*. 1994. 5: 42.
7. Marine A, Vidal M, Izquierdo M & Veciana M. Aminas biógenas en alimentos: unos microcomponentes de interés múltiple. *Rev. Esp. Nutr. Comunitaria*. 1995. 1: 138.
8. Fernández A. Control de la producción de histamina durante el deterioro del pescado. 2002. <http://tarwi.lamolina.edu.pe/~leojeri/hidrobiologico.htm>. consultado el 12 de abril, 2010.
9. Pouch F, & Ito K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods*. APHA. 4th ed. 2001.
10. Gelman A, Glatman L, Drabkin V & Harpaz S. Effects of storage temperature and preservative treatment on shelf life of the pond-raised freshwater fish, Silver Perch (*Bidyanus bidyanus*). *J Food Prot*. 2001. 64: 1584-1591.
11. Nunes M, Batista I & Morao de Campos R. Physical, chemical and sensory analyses of sardine (*Sardina pilchardus*) stored in ice. *J Sci. Food Agric*. 1992. 59: 37-43.
12. Scott D, G Fletchek; J Chrles & R Wong. Spoilage changes in the deep water fish smooth oreo dory during storage in ice. *Int J Food Sci Technol*. 1992. 27: 577-587.
13. Shin-Hee K, Field K, Chang D, Cheng-I W & Haejung A. Identification of Bacteria Crucial to Histamine Accumulation in Pacific Mackerel during Storage. *J Food Prot*. 2001. 64: 1556–1564
14. Centeno S & Rodríguez R. Evaluación microbiológica de pescados congelados producidos en Cumaná, Estado Sucre, Venezuela. *Revista Científica*. 2005. 15: 168-175.
15. Belkin S & Colwell R. *Oceans and health: pathogens in the marine environment*. Springer Science. 2005.
16. Huss H. Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros. FAO, Documentos técnicos de pesca. T1768/S. 1997.
17. Fernández E, Nava L & Mona L. Ausencia de *Vibrio parahaemolyticus* en pescado crudo. *Rev Lat Microbiol*. 2002. 30: 91-96

Recibido: 10-03-2011

Aceptado: 11-05-2011