

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD HIGIÉNICO SANITARIA DE FILETES DE  
PESCADO FRESCO COMERCIALIZADOS EN LAS FERIAS VECINALES  
DE MONTEVIDEO**

por

**Nancy BAKER UMPIÉRREZ  
Verónica KRÖHN ECHEVARRÍA**



TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias,  
(orientación Higiene, Inspección, Control y Tecnología de los Alimentos de Origen Animal)

MODALIDAD Ensayo experimental

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2007**

065 TG  
Evaluación de I  
*Baker Umpiérrez, Nancy*



**TUTOR:**

**Dr. José Pedro Dragonetti**

**CO TUTOR:**

**Dra. Cristina Friss de Kereki**

**TESIS DE GRADO aprobada por:**

**Presidente de Mesa:**

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Sonia Fernández**

**Segundo Miembro (Tutor):**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. José Pedro Dragonetti**

**Tercer Miembro:**

\_\_\_\_\_  
**Dra. Cristina López**

**Co Tutor:**

\_\_\_\_\_  
**Dra. Cristina Friss de Kereki**

**Fecha:**

**30 de Julio de 2007**

**Autores:**

  
\_\_\_\_\_  
**Nancy Baker**

  
\_\_\_\_\_  
**Verónica Kröhn**

## **AGRADECIMIENTOS**

- A nuestras familias, por todo el apoyo y estímulo brindado durante estos sacrificados años de estudio.
- Un agradecimiento muy especial a nuestros tutores Dr. José Pedro Dragonetti y Dra. Cristina Friss de Kereki por el valioso aporte académico y el permanente apoyo brindado en esta instancia.
- Al personal docente y no docente del Instituto de Investigaciones Pesqueras (IIP); principalmente al Sr. Mario Garabello que colaboro incansablemente en las actividades de laboratorio, a la Dra. Sonia Fernández por facilitarnos Reactivo de Tashiro, al Dr. Ernesto Varela que nos ayudó con el material de vidrio, a los Sres. Walter y Juan Carlos, por su buena disposición durante la realización de los ensayos.
- Un especial reconocimiento al Dr. Eduardo Lazaneo y al Dr. Eduardo Aguirre por su colaboración en este trabajo.
- Al Dr. José Piaggio por su aporte estadístico.
- A las firmas: Laboratorio Biológica, Laboratorio Biokey, Laboratorio Bioquím, Laboratorio Bionova, Laboratorio Dexin, Aislamientos térmicos Bromyros S.A., que colaboraron con valiosas donaciones.
- A todos los docentes de Facultad de Veterinaria que nos aportaron su conocimiento durante los cursos y a los maestros y profesores que nos formaron cuando cursamos primaria y secundaria.
- A nuestros amigos por apoyarnos y alentarnos a culminar nuestra carrera.
- A todas las personas que de una forma u otra nos ayudaron a lograr este objetivo.

## LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

### CUADROS

<b>Cuadro I.</b>	Principales constituyentes en porcentaje del músculo de pescado .....	6
<b>Cuadro II.</b>	Límites microbiológicos .....	20
<b>Cuadro III.</b>	Índices químicos exigidos.....	20
<b>Cuadro IV.</b>	Índices de frescura.....	20
<b>Cuadro V.</b>	Muestras que superan los límites microbiológicos establecidos por ICMSF.....	24
<b>Cuadro VI.</b>	Datos del personal.....	26
<b>Cuadro VII.</b>	Datos de los puestos .....	27
<b>Cuadro VIII.</b>	Ferias vecinales muestreadas.....	36
<b>Cuadro IX.</b>	Tabla del Número Más Probable.....	37
<b>Cuadro X.</b>	Resultados microbiológicos y químicos de las muestras de filetes.....	38
<b>Cuadro XI.</b>	Ficha utilizada para recolección de muestras.....	39

### FIGURAS

<b>Figura I.</b>	Brotos de etiología bacteriana.....	14
<b>Figura II.</b>	Cámara de Conway.....	18
<b>Figura III.</b>	Recuento de aerobios mesófilos.....	22
<b>Figura IV.</b>	Cuantificación presuntiva de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
<b>Figura V.</b>	Determinación de coliformes totales.....	23
<b>Figura VI.</b>	Determinación de coliformes fecales.....	23
<b>Figura VII.</b>	Resultado de Bases Nitrogenadas Volátiles Totales.....	24
<b>Figura VIII.</b>	Resultado de Nitrógeno de Trimetilamina.....	25
<b>Figura IX.</b>	Comparación de N en BNVT - NTMA 1ª serie.....	25
<b>Figura X.</b>	Comparación de N en BNVT - NTMA 2ª serie.....	26

## TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN .....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS .....	IV
1. RESÚMEN.....	1
2. SUMMARY .....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
3.1. Objetivos.....	4
3.1.1. Objetivo general.....	4
3.1.2. Objetivos específicos.....	4
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	5
4.1. El pescado fresco comercializado en Montevideo.....	5
4.1.1. Ferias.....	5
4.1.2. El consumo de pescado.....	5
4.2. Principales componentes del pescado .....	5
4.3. Modificaciones <i>post mortem</i> .....	7
4.3.1. Glúcidos.....	7
4.3.2. Lípidos .....	8
4.3.3. Nucleótidos.....	8
4.3.4. Compuestos nitrogenados.....	8
4.3.4.1. Nitrógeno proteico .....	8
4.3.4.2. Nitrógeno no proteico .....	9
4.4. Microbiología de los peces .....	10
4.4.1. Bacterias autóctonas .....	10
4.4.2. Bacterias no autóctonas .....	10
4.4.2.1. Aerobios mesófilos totales.....	11
4.4.2.2. Familia <i>Enterobacteriaceae</i> .....	11
4.4.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	12
4.5. Enfermedades transmitidas por alimentos.....	12
4.5.1. Situación en el Uruguay.....	13
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
5.1. Microbiología .....	15
5.1.1. Materiales.....	15
5.1.2. Medios de cultivo.....	15
5.2. Química.....	15
5.2.1. Materiales.....	15
5.2.2. Reactivos.....	15
5.3. Método.....	16
5.3.1. Muestreo.....	16
5.3.2. Preparación de la muestra.....	16
5.4. Ensayos microbiológicos .....	16
5.4.1. Recuento de aerobios mesófilos.....	16
5.4.2. Cuantificación presuntiva de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
5.4.3. Detección de Coliformes totales y fecales .....	17
5.5. Determinación objetiva del grado de frescura .....	17
5.5.1. Método de Microdifusión de Conway.....	17
5.5.2. Preparación de la muestra.....	18
5.5.3. Valoración de BNVT .....	18

5.5.3.1.	Cálculo .....	19
5.5.4.	Determinación de TMA .....	19
5.5.4.1.	Cálculo .....	19
5.5.5.	Valoración de NTMA .....	19
5.5.5.1.	Cálculo .....	19
5.6.	Parámetros de referencia .....	19
5.6.1.	Exigencias para los puestos de venta en ferias y su personal... 21	
6.	RESULTADOS .....	22
6.1.	Parámetros microbiológicos .....	22
6.2.	Parámetros químicos.....	24
6.3.	Análisis descriptivo de los puestos de venta callejeros .....	26
7.	DISCUSIÓN.....	28
9.	RECOMENDACIONES.....	31
10.	BIBLIOGRAFÍA .....	32
11.	ANEXOS .....	36

## 1. RESÚMEN

El objetivo del presente trabajo ha sido determinar la calidad higiénico sanitaria de filetes de pescado fresco comercializado en las ferias de Montevideo. Se analizó un total de 44 muestras, las mismas fueron sometidas a estudios bacteriológicos y químicos. Se realizó recuento total de aerobios, coliformes totales, fecales y cuantificación presuntiva de *Staphylococcus aureus*. Se determinaron, Bases Nitrogenadas Volátiles Totales, Trimetilamina y Nitrógeno de Trimetilamina. Además se realizó un estudio analítico y descriptivo de las instalaciones de los puestos y de los trabajadores, a fin de conocer aspectos sanitarios y verificar si se cumplen las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM).

Se dan los resultados de los análisis realizados en muestreos durante el periodo de octubre 2005 a julio 2006. Con respecto a las determinaciones microbiológicas, cabe destacar que para el recuento de aerobios mesófilos totales, el 16% de las muestras superaron los límites establecidos. Para *Staphylococcus aureus*, se detectó incumplimiento en el 11.6% de las muestras analizadas. En lo referente a los coliformes fecales, las muestras superaron los límites establecidos en el 36% del total. Considerando los límites microbiológicos establecidos por la ICMSF para todos los microorganismos analizados, el 47% superaron los mismos. En cuanto a los parámetros químicos, los resultados indican para las Bases Nitrogenadas Volátiles Totales que el 18% de las muestras incumplen la normativa. Las determinaciones de Trimetilamina y Nitrógeno de Trimetilamina se realizaron en 42 muestras, en donde se demostró que el producto se encontraba fresco en el 67% y dudoso en el 33%.

Estos resultados se evaluaron de acuerdo a criterios de aceptación establecidos por: Reglamento Bromatológico Nacional, Food & Drug Administration, Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas de Alimentos, Canadian Food Inspection Agency, Normativa MERCOSUR, V. H. Bertullo (IIP) y Mercados internacionales.

## **2. SUMMARY**

The objective of the current assignment was to determine the sanitary and hygienic quality of fish fillets which are commercialized in Montevideo fairs. A total of 44 samples have been analyzed, all of them were subjected to chemical and bacteriological analysis. Among the different microbiological parameters, it was chosen to study the count of aerobic mesophilic bacteria, fecal coliforms, total coliforms and presumptive *Staphylococcus aureus*. Chemical analysis has been made to determine the amount of Total Volatile Bases, Trimethylamine and Trimethylamine Nitrogen. Descriptive and analytical studies were done to fish sellers and fish markets to verify if Good Manufacturing Practices (GMP) had been implemented.

Results of analysis of samples taken in the period from October 2005 to July 2006 are given; with respect to the microbiological determinations, it is worth noticing that for the count of aerobic mesophilic bacteria, 16% of the samples exceeded the established limits. For *Staphylococcus aureus*, it was detected a non-compliance of 11.6% of the samples analyzed. Regarding the fecal coliforms, samples exceeded the limits in 36% of the total. 47% of samples exceeded the microbiological limits recommended for ICMSF for the microorganisms analyzed in the present study. With regard to the chemical parameters, the results are the following: in the Total Volatile Bases, 18% of the samples do not comply with the norms. The measures of Trimethylamine and Trimethylamine Nitrogen were made in 42 samples, in where it was demonstrated that the product was fresh in 67% of the samples and doubtful in 33% of them.

These results were evaluated according to the acceptance criteria established by: Reglamento Bromatológico Nacional, Food & Drug Administration, International Commission on Microbiological Specifications for Foods, Canadian Food Inspection Agency and MERCOSUR Normative.

### 3. INTRODUCCION

Los hábitos de consumo de alimentos han sufrido cambios importantes en muchos países (*Codex Alimentarius*, 1998) y, en consecuencia cada vez más personas, están optando por el pescado como alternativa alimenticia saludable respecto a la carne roja. Los médicos y nutricionistas incentivan el consumo de pescado debido al bajo contenido de grasa y los efectos beneficiosos de los ácidos grasos poliinsaturados (omega-3) sobre las afecciones cardiovasculares (Huss, 1997), el mismo autor señala, que el contenido de sodio en la carne de pescado es relativamente bajo lo cual le hace apropiado para regímenes alimenticios de tal naturaleza.

Los productos pesqueros están incluidos en el grupo de alimentos perecederos, por sus características de pH, humedad, contenido de NNP (nitrógeno no proteico), que le convierten en alimentos susceptibles de ser contaminados por gran número de bacterias (Abgrall, 1994). La manipulación a la que es sometido el pescado una vez capturado, es un factor de deterioro de gran importancia, tanto es así que en el supuesto caso de que se pudiera contar con las mejores e higiénicas instalaciones, si el producto no se manipula dentro de estrictas normas, se corre el riesgo que se deteriore prematuramente (Pérez Salmerón, 1985).

Una mala higiene del personal que manipula los productos alimenticios es evidente que conduce a la contaminación frecuente del mismo, en especial del personal portador de gérmenes patógenos. La limpieza y la desinfección de las superficies de trabajo, los utensilios (cuchillos, tablas para fileteado, etc.) y los recipientes (cajas, bandejas, etc.) juegan un papel importante en la prevención de la contaminación de los alimentos (Mescle y Zucca, 1994).

“La estimación del número de bacterias en los alimentos se utiliza con frecuencia como evaluación retrospectiva de la calidad microbiológica, o para evaluar la presunta “inocuidad alimentaria” (Huss, 1997). La elección de los microorganismos estudiados en el presente trabajo como indicadores higiénico sanitario estuvo basada en las recomendaciones sobre límites microbiológicos de la ICMSF, éste organismo recomienda para pescado fresco el estudio de aerobios mesófilos y *E. coli*. Se eligió *S. aureus* como otro indicador, por ser un importante patógeno asociado a ETA (Enfermedades Transmitidas por los Alimentos) y vehiculizado por la manipulación del hombre. En el caso de pescado fresco que vaya a ser consumido crudo o pescado fresco de especies dulceacuícolas, la ICMSF aconseja la determinación de *Salmonella* y *Vibrio parahaemolyticus*.

Los cambios químicos producidos en los pescados originan una serie de compuestos en su mayoría volátiles y su determinación se realiza en función de su contenido en Bases Nitrogenadas Volátiles Totales, Trimetilamina y otros (Huidobro y Tejada, citado por Márquez Figueroa *et al.*, 2006). Se plantea determinar el contenido de estos compuestos en los filetes para evaluar los distintos grados de frescura.

A través de este trabajo, pretendemos aportar datos actuales sobre la calidad higiénico sanitaria de los filetes de pescado comercializados en ferias y contribuir así a mejorar las acciones de inspección y control tendientes a prevenir las ETA, ya que la tasa de éstas aumenta considerablemente.

### **3.1. OBJETIVOS**

#### **3.1.1. Objetivo general**

Evaluar mediante métodos microbiológicos y químicos la calidad higiénico sanitaria en filetes de pescado fresco comercializados en las ferias vecinales de Montevideo.

#### **3.1.2. Objetivos específicos**

- Realizar recuento de aerobios mesófilos totales, *Staphylococcus aureus*, coliformes totales y fecales.
- Determinar Bases Nitrogenadas Volátiles Totales (BNVT), Nitrógeno de Trimetilamina (NTMA) y Trimetilamina (TMA).
- Realizar análisis descriptivo de los puestos de venta callejeros y del personal de los mismos.

## **4. REVISION BIBLIOGRAFICA**

### **4.1. EL PESCADO FRESCO COMERCIALIZADO EN MONTEVIDEO**

La venta de pescado y subproductos se realiza en ferias, pescaderías, supermercados, puestos costeros artesanales, puestos ambulantes y restaurantes.

Las principales especies capturadas en Uruguay son: corvina (*Micropogonias furnieri*), pescadilla de calada (*Cynoscion guatucupa*), pescadilla de red, (*Macrodon ancylodon*), gatuzo (*Mustelus schmitti*), brótola (*Urophycis brasiliensis*), sargo (*Diplodus argenteus*), anchoa (*Pomatomus saltatrix*), palometa (*Parona signata*), cazón (*Galeorhinus galeus*), merluza (*Merluccius hubbsi*), pez espada (*Xiphias gladius*), lenguado (*Paralichthys sp.*) y mero (*Epinephelus sp.*).<sup>1</sup>

#### **4.1.1. Ferias**

En Montevideo existen 68 permisarios (habilitados por el Ministerio de Economía y Finanzas, Dirección General de Comercio, Área Defensa al Consumidor, Departamento Mercado y Consumo, Sección Ferias) para la comercialización de pescado, distribuidos en 123 ferias, que funcionan de martes a domingo, con un promedio de 2 puestos de venta en cada una, representando 246 puntos de distribución por semana.

Los puestos de venta de alimentos en la vía pública deben ajustarse en sus construcciones a las condiciones higiénicas y de seguridad previstas según el Reglamento Bromatológico Nacional 315/994.

A diferencia de los supermercados y los mercados fijos, los puestos móviles que se instalan en las ferias y operan a diario en diversas ubicaciones de la capital, cuentan con un mínimo de infraestructura para realizar actividades tales como, el lavado de los pescados y el fileteado manual, además de exhibir los productos y comercializarlos. Los vehículos utilizados por los feriantes son camiones con caja isotérmica incorporada para el transporte de pescados y subproductos.

#### **4.1.2. El consumo de pescado**

El consumo de productos pesqueros en Montevideo se estima en 9.1 Kg. (sobre la base de pescado entero por habitante y por año) lo que equivaldría a un total de 12.349.447 Kg. (Wiefels *et al.*, 1997).

De los productos frescos, el sector de feriantes y mercados municipales es el de mayor participación, con 14.4 % (Wiefels *et al.*, 1997).

## **4.2. PRINCIPALES COMPONENTES DEL PESCADO**

“En los productos de la pesca, como en otros alimentos, están contenidos en variables proporciones, los principios nutritivos que el organismo humano necesita para su funcionamiento” (Pérez Salmerón, 1985). La composición

---

<sup>1</sup> Los nombres científicos de las especies fueron obtenidas consultando, Peces del Uruguay (ver bibliografía).

química de los peces varía entre las diferentes especies y entre individuos de una misma especie, dependiendo de la edad, el sexo, el medio ambiente y la estación del año (Huss, 1998).

En el **Cuadro I.** se muestran los principales constituyentes expresados en porcentaje del músculo.

Constituyente	Pescado (filete)			Carne vacuna (músculo aislado)
	Mínimo	Variación normal	Máximo	
Proteínas	6	16-21	28	20
Lípidos	0,1	0,5 - 25	67	3
Carbohidratos		< 0,5		1
Cenizas	0,4	1,2-1,5	1,5	1
Agua	28	66-81	96	75

FUENTES: Stansby, 1962; Love, 1970, citados por Huss, 1998.

En relación a la composición química, la diferencia entre el pescado y la carne vacuna es mínima. La carne de pescado se compone principalmente de agua, proteínas y grasa.

La fracción proteica es bastante constante en la mayoría de las especies, aunque se han observado variaciones, en la reducción de proteínas del músculo durante el desove y el nado migratorio o el aumento de proteínas en los períodos de intensa alimentación (Huss, 1998). La composición de aminoácidos es aproximadamente la misma que en las proteínas del músculo de mamíferos (Huss, 1998) y sus proporciones son también semejantes (Pérez Salmerón, 1985). Las proteínas son de alto valor biológico y fácil digestibilidad (Ludorff y Meyer, 1975). La proteína bruta esta constituida por las proteínas y otros compuestos nitrogenados tales como óxido de trimetilamina, trimetilamina, nucleótidos, ácidos nucleicos, aminoácidos, urea, etc. (Sikorski, 1994).

La cantidad de lípidos en los peces varia dentro de límites tan amplios (0,5 a 25%) que se los puede dividir en magros y grasos; encontrándose, magros con menos de 2% de grasa, el bacalao; bajos en grasa 2-4% se encuentra el mero, medio grasos 4-8% el salmón y altos en grasa, más de 8% se encuentran, sardina, anchoveta y arenque (Castro González, 2002). Los valores fluctúan mucho, ya que depende de varios factores como son, la especie, el estado fisiológico, etc. (Sikorski, 1994). Los ácidos grasos insaturados forman las  $\frac{3}{4}$  partes aproximadamente de los lípidos de los peces (Pérez Salmerón, 1985), esta es la principal diferencia con los ácidos grasos

de los mamíferos que raramente contienen más de dos dobles enlaces (Huss, 1998).

El contenido de carbohidratos en el músculo de pescado es muy bajo, generalmente inferior al 0,5 por ciento (Huss, 1998). Esto es típico del músculo estriado, en el cual los carbohidratos se encuentran en forma de glucógeno y como parte de los constituyentes químicos de los nucleótidos (Huss, 1998).

El mayor valor nutritivo del pescado respecto a las carnes rojas, es su alto contenido en minerales y vitaminas (Pérez Salmerón, 1985). La cantidad de vitaminas y minerales es específica de la especie y puede variar con la estación del año. En general, la carne de pescado es rica en vitamina B y también en vitaminas A y D que se presentan en gran cantidad en las especies grasas (Huss, 1998; Pérez Salmerón, 1985). Respecto a los minerales, la carne de pescado se considera una fuente particularmente valiosa de calcio, fósforo, hierro y cobre y en los peces de mar se encuentra un alto contenido de yodo (Huss, 1998; Pérez Salmerón, 1985).

La variación en el porcentaje de grasas se encuentra en una relación inversa con el porcentaje de agua, dado que la suma de ambas normalmente constituye el 80 por ciento del filete (Huss, 1998; Pigott, 1990).

#### **4.3. MODIFICACIONES *POST MORTEM***

Cuando el pez se encuentra en el agua, su organismo está en equilibrio; si nosotros tomamos a ese pez y lo acercamos a nuestra nariz solo percibiremos "olor a mar" (Yeannes, 2002).

Una vez que el pez deja el agua y muere comienzan una serie de modificaciones sensoriales, autolíticas y bacteriológicas que modifican sus características iniciales y darán lugar a la formación de compuestos a partir de las más importantes fracciones del músculo, como son los glúcidos, lípidos y compuestos nitrogenados.

La rapidez de la presentación de estas modificaciones depende de varios factores, entre los que se destacan la especie y su composición, los métodos de captura utilizados, la época del año, la temperatura, la carga microbiana de origen y la manipulación (Pérez Salmerón, 1985).

##### **4.3.1. Glúcidos**

La glicólisis *post mortem* tiene lugar en condiciones anaeróbicas dando lugar a la formación de ácido láctico, por lo que el pH desciende a 6,1 - 6,8 según las especies (Sainclivier, citado por Abgrall, 1994) ya que está en directa relación con la cantidad de ácido láctico que se acumula. Se produce así la zona de "protección ácida" que en el caso del pescado no es muy efectiva debido al agotamiento de las reservas de glucógeno durante la agonía. Es esta la razón por la cual el pescado es más susceptible al ataque microbiano que las carnes rojas (Oliveira *et al.*, 2000).

El ácido láctico es oxidado a ácido acético concomitantemente con la reducción de Óxido de Trimetilamina a Trimetilamina (Pérez Salmerón, 1985; Bertullo, 1975).

### **4.3.2. Lípidos**

Los ácidos grasos son en su mayoría insaturados. Por procesos hidrolíticos liberan ácidos grasos libres que pueden degradarse hasta la formación de ácidos volátiles (Pérez Salmerón, 1985).

La oxidación de los aceites, lleva a la formación de peróxidos, esto provoca cambios de olor conocidos como de enranciamiento, e indican el grado de conservación del producto (Pérez Salmerón, 1985).

### **4.3.3. Nucleótidos**

El ATP no es sólo una fuente de energía necesaria para la contracción muscular de los animales vivos, sino que también proporciona plasticidad al músculo (Huss, 1998). Una vez que se detiene el suministro de oxígeno, el músculo anaeróbico no puede mantener su nivel normal de ATP, y el pescado entra en *rigor mortis*. La ruta catabólica para la degradación de ATP hasta inosina es debida en su totalidad a enzimas autolíticas, que mediante reacciones de defosforilación y desaminación dan lugar a Adenosín difosfato (ADP), Adenosín monofosfato (AMP), Inosina monofosfato (IMP), Inosina (HxR) e Hipoxantina (Hx). La degradación de los catabolitos del ATP procede de la misma forma en la mayoría de los pescados, pero la velocidad de cada reacción (de un catabolito a otro), varía enormemente entre una especie y otra (Huss, 1998). Antes del comienzo del *rigor mortis*, el glucógeno y el ATP casi han desaparecido mientras se acumula IMP y posteriormente HxR. Cuando los niveles de estos compuestos de la degradación disminuyen y el contenido de Hx aumenta el pescado tiene un sabor agrio o amargo (Spinelli, citado por Pons, 2005). La determinación de hipoxantina se puede utilizar para evaluar el grado de frescura (Huss, 1998) ya que mas fresco estará el pescado cuanto menor sea el valor de Hx (Oliveira *et al.*, 2000).



### **4.3.4. Compuestos nitrogenados**

La degradación de los compuestos nitrogenados varía si se trata de nitrógeno proteico o nitrógeno no proteico.

#### **4.3.4.1. Nitrógeno proteico**

Los cambios autolíticos en las proteínas son mucho menos pronunciados que los cambios vistos en los nucleótidos.

Las proteínas que constituyen el músculo de los pescados son degradadas a péptidos y a aminoácidos por un grupo de enzimas proteolíticas lisosomales, llamadas catepsinas que son liberadas en caso de abuso físico o congelación y descongelación *post mortem* del músculo (Pons, 2005). Los péptidos de bajo peso molecular y los aminoácidos libres producidos por la degradación de las proteínas, permiten que se desarrollen los microorganismos (Abgrall, 1994).

La descarboxilación o desaminación de aminoácidos tales como histidina, arginina, glutamina y lisina, dan origen a histamina, amoniaco, putrescina y cadaverina, respectivamente; estas aminas biógenas se acumulan e influyen

en el olor (Oliveira *et al.*, 2000) en estados muy avanzados de la alteración (Pons, 2005) y son responsables de ETA.

Es importante evitar la formación de metabolitos, principalmente la histamina ya que actúa como mediador en las reacciones de Hipersensibilidad Tipo I. La cadaverina y la putrescina están presentes en el pescado deteriorado y pueden actuar como potenciadores de la toxicidad de la histamina (Huss, 1997). Para prevenir la formación de histamina se debe mantener el pescado a baja temperatura de preservación y almacenamiento (0 °C) y controlar así el crecimiento microbiano (Oliveira *et al.*, 2000; Huss, 1997).

#### **4.3.4.2. Nitrógeno no proteico**

Los compuestos nitrogenados no proteicos del músculo de pescado se encuentran disueltos en el plasma celular y fluido intercelular. Se extraen con rapidez de los músculos cuando se los trata con agua y de allí surge la común denominación de extractivos (Burgess, 1987; Bertullo, 1975).

Tanto la actividad bacteriana, como la autolítica del pescado dan lugar a una serie de compuestos nitrogenados básicos como el amoníaco, la trimetilamina (expresada como NTMA), la dimetilamina (DMA) y la monometilamina, conocidas en su conjunto como Bases Nitrogenadas Volátiles Totales (BNVT), a las que se les considera representativas de la alteración del pescado (Hollingworth y col., citado por Pons, 2005).

En los peces de agua salada se encuentra el Oxido de Trimetilamina (OTMA) responsable del "olor a mar", cuya función más conocida es la de osmorregulación (Stroem, citado por Huss, 1998), lo que permite a las especies marinas adaptarse a las variaciones en la concentración de sales del medio. Este compuesto está ausente en especies de agua dulce y en organismos terrestres (Anderson y Fellers; Hebard *et al.*, citados por Huss, 1998). El OTMA se encuentra en cantidades del 1 al 5 por ciento del tejido muscular (peso seco), dependiendo de la especie, estación del año, área de pesca, etc. (Huss, 1998). Cuando el pescado muere el OTMA es reducido por acción de enzimas bacterianas a Trimetilamina (TMA) (Dragonetti, 1992), compuesto al que se considera el responsable del característico "olor a pescado" que es indicador de deterioro bacteriano (Yeannes, 2002; Oliveira *et al.*, 2000; Bertullo, 1975), que luego por acción enzimática (no necesariamente bacteriana) se reduce a Dimetilamina, Monometilamina y Amoníaco (Oliveira *et al.*, 2000).

Cuando la actividad bacteriana está impedida, como en el caso del pescado mantenido a temperaturas de congelación, a partir del precursor OTMA se puede formar DMA y formaldehído en cantidades equimoleculares por acción de enzimas del propio pescado (Lundstrom y Racicot, citado por Pons, 2005). Así, el NTMA está relacionado con el almacenamiento del pescado en refrigeración, mientras que la DMA con el pescado mantenido en congelación.

La determinación de estos compuestos tiene amplia aplicación práctica, ya que estos son indicadores de frescura y tienen un papel fundamental en las características organolépticas del pescado (Oliveira *et al.*, 2000).

#### **4.4. MICROBIOLOGÍA DE LOS PECES**

Los pescados tienen una carga microbiana con dos orígenes, uno inicial que pertenece a los mismos gérmenes provenientes del medio acuático donde habitan y otro derivado de la manipulación posterior a la captura que ha sido aportado en algún momento de su historia, ya sea durante el transporte, el almacenamiento, procesado, comercialización, etc. (Pérez Salmerón, 1985).

Las masas musculares de los peces son estériles en vida e inmediatamente después de su captura; pero se contaminan a partir de la flora localizada en el *mucus* de la superficie corporal, específicamente en la piel, las branquias y el tracto gastrointestinal (Graham, 1992; Pérez Salmerón, 1985).

La piel hace de barrera para impedir la entrada de microorganismos y el peritoneo protege la zona intestinal. Durante la captura y la manipulación los pescados sufren desgarros y rupturas de tejido que permiten la colonización bacteriana del músculo por parte de la flora característica del pescado.

Los principales géneros microbianos se pueden dividir convenientemente en dos grupos, bacterias autóctonas y bacterias no autóctonas.

##### **4.4.1. Bacterias autóctonas**

La flora contaminante habitual del pescado pertenece a varios géneros, sobre todo: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Alteromonas*, *Moraxella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Serratia*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Vibrio*, *Clostridium*, mohos y levaduras (Shewan; Pascual-Anderson, citados por Pons, 2005).

La zona de pesca, la estación del año, la salinidad y la temperatura del agua, etc. tienen claramente un efecto selectivo. Así, los organismos psicrótrópicos (*C. botulinum* y *Listeria*) abundan en el Ártico y en los climas más fríos, mientras que los tipos mesófilos (*V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*) representan parte de la flora natural de los peces de los hábitat costeros y estuarinos de las zonas templadas o tropicales cálidas (Huss, 1997).

Si bien es verdad que todos los pescados y subproductos, pueden estar contaminados por uno o más de estos patógenos, normalmente el nivel de contaminación es bastante bajo siendo improbable que las cantidades naturalmente presentes en el pescado sin cocinar sean suficientes para provocar enfermedades (Huss, 1997).

##### **4.4.2. Bacterias no autóctonas**

Entre los principales microorganismos de interés en microbiología alimentaria se encuentran los aerobios mesófilos totales y las bacterias patógenas para el hombre como *E. coli* y *Staphylococcus spp.*, cuyo recuento es considerado de gran importancia en la inocuidad y aptitud de los alimentos para consumo humano.

#### 4.4.2.1. Aerobios mesófilos totales

Las bacterias aerobias mesófilas se multiplican a temperaturas entre 20 y 40 °C con un óptimo de crecimiento a 37°C (Mescle y Zucca, 1994), y se las encuentra en los alimentos cuando son almacenados a temperatura ambiente.

Los ensayos pueden ser útiles para: medir una fracción de la microflora del producto, la eficacia de los procesos térmicos, detectar fallas en el mantenimiento de la temperatura o cuando se ha roto la cadena de frío en alimentos refrigerados, obtener un perfil sanitario de los equipos y utensilios y las condiciones higiénicas durante la elaboración (Huss, 1997).

Esta determinación en algunas ocasiones resulta una buena guía, si bien su relación con la seguridad de los alimentos es más bien débil, permite obtener datos sobre su vida útil.

La presencia de un número elevado de estas bacterias esta indicando que, pueden haberse dado las condiciones favorables para la multiplicación de microorganismos patógenos de origen humano o animal, la carga inicial fue muy alta (raro) o se dieron las condiciones para su desarrollo (ICMSF, 1983).

#### 4.4.2.2. Familia *Enterobacteriaceae*

La familia *Enterobacteriaceae* esta formada por coliformes totales y no coliformes, a su vez los coliformes totales se dividen en coliformes fecales (incluyendo en este grupo al menos tres géneros: *Escherichia*, *Enterobacter* y *Klebsiella*) y no fecales. El grupo coliformes incluye aerobios y anaerobios facultativos, Gram negativos, no esporulados, capaces de fermentar la lactosa, formando ácido y gas a 35 °C a las 48 h. (ICMSF, 1983).

Según Hitchins y col, citado por OPS (1996), los coliformes fecales se utilizan en lugar de *E. coli* en criterios microbiológicos; afirmando además que son capaces de crecer y fermentar la lactosa a temperaturas de 44,5 - 45,5°C. La presencia de coliformes de origen fecal en los alimentos indica el riesgo de que también hayan llegado patógenos entéricos como *Salmonella*, *Shigella* y otros (Mossel, citado por OPS, 1996).

El hábitat primario de los coliformes fecales y de la *E. coli* es el intestino de los animales de sangre caliente, entre ellos el ser humano, por este motivo se utilizan como indicadores de higiene y de la incidencia de contacto directo o indirecto de los alimentos con materia fecal.

Los alimentos de origen vegetal que en algunas ocasiones los vendedores de pescado colocan a los productos para darles un ambiente de frescura, y el agua utilizada durante el fileteado, son vehículos frecuentes de coliformes, por lo que, considerando la temperatura óptima de crecimiento bacteriano, las condiciones de manipulación y la comercialización en la vía pública, este tipo de alimentos puede hallarse contaminado.

Según Huss (1997), la educación y una buena higiene personal de los manipuladores de alimentos son esenciales en la lucha contra las enfermedades causadas por los coliformes.

#### **4.4.2.3. *Staphylococcus aureus***

Los *S. aureus* se caracterizan por ser cocos Gram positivos, anaeróbicos facultativos, no esporulados, inmóviles, relativamente resistentes a la sal. La temperatura mínima de desarrollo es de 10°C, pero se requieren temperaturas más altas para la producción de toxinas (>15 °C), (Huss, 1987). Al multiplicarse en los alimentos, producen diversas enterotoxinas con la particularidad de ser termorresistentes, la mayoría resisten la ebullición en el alimento hasta 30 minutos (Berdgdoll, citado por Hayes, 1993).

Los *Staphylococcus* no forman parte de la flora normal del pescado, aunque si se encuentran en el suelo, agua, aire teniendo como reservorios al hombre y a los animales (Berdgdoll, citado por OPS, 1996). La manipulación inadecuada por parte de los portadores o personas con heridas en los brazos y manos, constituye la principal fuente de contaminación de los alimentos con *S. aureus* (Lancette, citado por OPS, 1996).

Según Ahmed, citado por Huss (1997), la tasa de portadores humanos puede ser hasta del 60 por ciento de los individuos sanos, con una media de 25 a 30 por ciento de la población que es positiva para las cepas productoras de enterotoxinas.

Es necesario destruir los gérmenes por el calor (pasterización, cocción) antes de que lleguen a multiplicarse, o bien paralizar su multiplicación, manteniendo los alimentos por debajo de 6 °C. Sin embargo, el calentamiento no elimina las toxinas preformadas en las materias primas (Jay, 2000).

#### **4.5. ENFERMEDADES TRASMITIDAS POR ALIMENTOS**

Se define a ETA (Enfermedades Transmitidas por Alimentos) como: "síndrome originado por la ingestión de alimentos y/o agua, que contengan agentes etiológicos, en cantidades tales que afecten la salud del consumidor a nivel individual o grupos de población" (IN.P.P.A.Z, citado por Acuña *et al.*, 2002).

"Las enfermedades de transmisión alimentaria y los daños provocados por los alimentos son, en el mejor de los casos desagradables, y en el peor pueden ser fatales" (*Codex Alimentarius*, 1997).

Aunque no se conoce la incidencia real de las ETA, se ha estimado que tan sólo se comunica el 1% de los casos reales de estas enfermedades (Mossel, citado por Huss, 1997; Hayes, 1993). En la mayoría de los países no es obligatorio denunciar a las autoridades sanitarias sobre las enfermedades transmitidas por alimentos y en los pocos países que tienen un sistema de recolección de denuncias, se observan graves incumplimientos. Esto se debe a que ni la víctima ni el médico son conscientes del papel etiológico de los alimentos, además, a menudo no se dispone del alimento en cuestión para su análisis ni se identifica el auténtico agente etiológico de la enfermedad (Huss, 1997).

Bryan, citado por Huss (1997), ha analizado las enfermedades relacionadas con varias clases de productos pesqueros en el periodo 1970-1984, determinando que el producto más involucrado era el pescado seguido por los moluscos bivalvos y los crustáceos. El 18% de los brotes epidemiológicos relacionados con el pescado registrado en los Estados Unidos de Norte

América eran de etiología desconocida. Las intoxicaciones más comunes fueron asociadas a la ingestión de biotoxinas (ciguatera) e histamina, que representaron  $\frac{2}{3}$  de todos los brotes registrados; el 18% restante fueron causados por distintos agentes (bacterias, parásitos, virus) y sustancias químicas, e incluyen: intoxicación por *Staphylococcus*, *Shigella*, *Anisakiasis*; gastroenteritis por *Clostridium perfringens*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella*; infección por *Streptococcus pyogenes* y envenenamiento por pez globo (*Fugu-tetradontidae*) y químico (cadmio, plomo, mercurio, etc.).

#### **4.5.1. Situación en el Uruguay**

En Uruguay no hay mucha información documentada sobre ETA en productos pesqueros, en muchos casos las afecciones derivadas del consumo de pescado no se denuncian, o no son diagnosticadas clínicamente o directamente no llegan a la consulta.

El primer episodio documentado de ETA en el país fue en 1993 y estuvo relacionado con *Salmonella*, destacándose que el alimento involucrado no fue de origen pesquero.

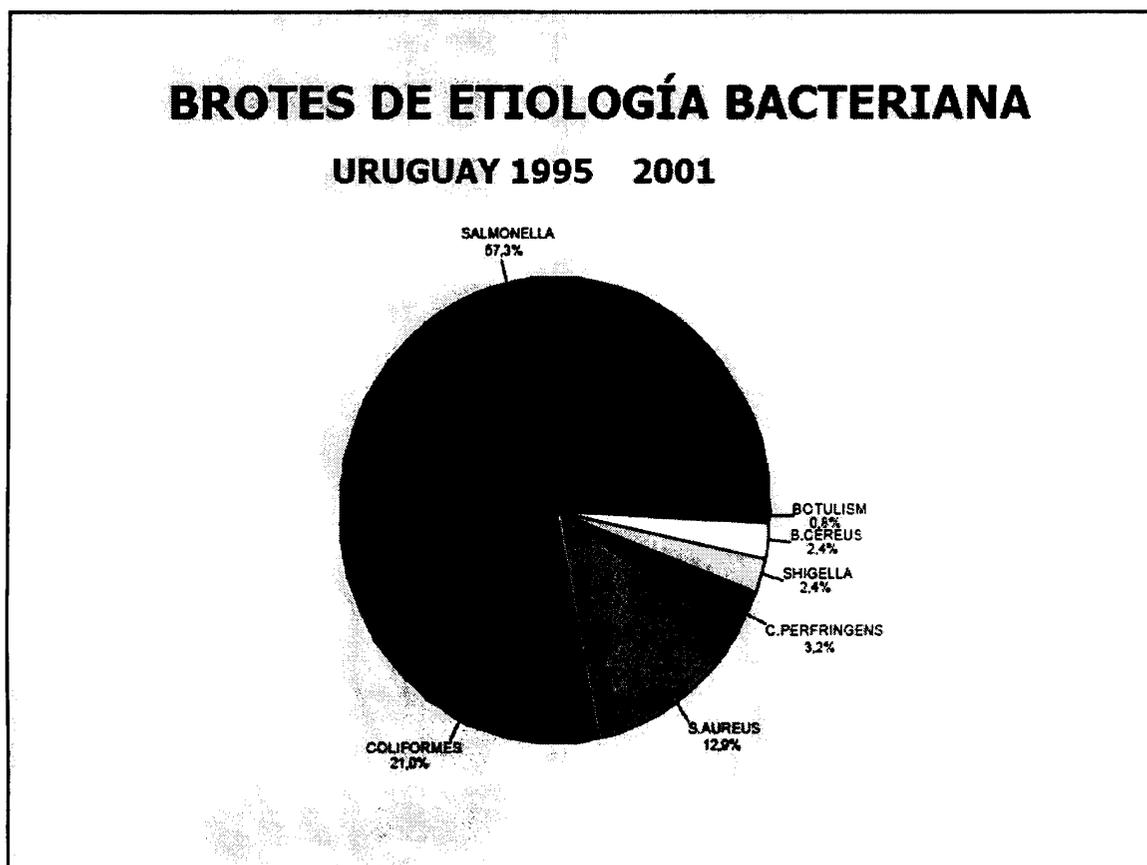
En el año 1995 Uruguay inicia el desarrollo del Sistema V.E.T.A. (Sistemas Nacionales de Vigilancia Epidemiológica de las ETA) con la implementación de actividades tendientes a estimular la búsqueda, notificación e investigación precoz de estas enfermedades y con el objetivo de conocer su situación como problema de salud pública en el país. Esta sería una de las causas del aumento de los brotes registrados al disminuir el subregistro (Savio y Linder, citado por Acuña *et al.*, 2002).

Se considera que también hay un aumento real de la incidencia como se observa en otras partes del mundo. Entre los años 1995 y 2001, fueron registrados en nuestro país 130 brotes en los cuales se pudo arribar al diagnóstico etiológico. Se destaca un claro predominio del origen bacteriano (95.4 %), correspondiendo al origen químico (4.6 %) en el período estudiado. Este dato coincide con los de otros países y regiones, como Estados Unidos, países de Europa y de nuestra región (FAO, citado por Acuña *et al.*, 2002).

Según el mismo autor, el agente responsable más frecuente en los brotes de origen bacteriano es *Salmonella sp.* con un 57.3%, en el 21% de los brotes se detectó presencia de coliformes en el alimento, sin haber podido identificarse un patógeno específico, siguiendo en orden *Staphylococcus aureus* con 13%, y el restante 9% corresponde a *Clostridium perfringens*, *Shigella sp.*, *Bacillus cereus*, y un brote de botulismo responsable de la única defunción registrada en este período (ver Fig. I.).

El factor contribuyente identificado con mayor frecuencia en los brotes de origen bacteriano fue materia prima contaminada, ya sea como único factor o en la mayoría de los casos asociado a procesamiento térmico ausente o insuficiente, tiempo prolongado entre preparación y consumo, sumado a conservación de los alimentos a temperatura inadecuada. Solamente en los brotes en los que el agente causal fue *S. aureus*, se identificó al hombre como fuente de infección (Acuña *et al.*, 2002).

Lo anteriormente descrito sobre ETA es de carácter general, no existiendo datos oficiales sobre enfermedades de origen microbiológico transmitidas por productos pesqueros.



**Fig. I.** Brotes de etiología bacteriana.  
Fuente: Acuña *et al.*, 2002.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

La actividad de laboratorio se desarrolló en el Instituto de Investigaciones Pesqueras Prof. Dr. Víctor H. Bertullo (UdelaR – Facultad de Veterinaria), inmediatamente luego de realizada la recolección de las muestras.

### **5.1. MICROBIOLOGÍA**

#### **5.1.1. Materiales**

- Balanza analítica
- Bolsas estériles
- Baño para incubación a 44.5° C
- Estufa para incubación a 35° C
- Material de vidrio (pipetas, tubos de ensayo, etc.)
- Material para el procesamiento de muestras (tijeras, pinzas, etc.)
- Agua peptonada
- Suero fisiológico
- Muestras

#### **5.1.2. Medios de cultivo**

- PCA (*Plate Count Agar*)
- Caldo de Triptosa y Sulfato de Lauril
- Bilis, Verde Brillante y Lactosa al 2%
- Caldo EC (*Escherichia Coli*)
- Agar 110

### **5.2. QUÍMICA**

#### **5.2.1. Materiales**

- Balanza analítica
- Cámaras para Microdifusión de Conway
- Vaselina
- Papel filtro
- Material de vidrio (vasos de bohemia, embudos, pipetas, etc.)
- Material para el procesamiento de muestras (licuadora, tijeras, pinzas, etc.)
- Microbureta
- Muestras

#### **5.2.2. Reactivos**

- Ácido tricloroacético 5%
- Ácido bórico 2%
- Carbonato de potasio solución saturada
- Formol neutralizado
- Reactivo de Tashiro
- Ácido clorhídrico N/100



## **5.3. MÉTODO**

### **5.3.1. Muestreo**

Con el objetivo de lograr una mayor representatividad se tomaron dos muestras de cada uno de los 22 puestos estudiados, distribuidos en 11 ferias las cuales fueron seleccionadas al azar (**Cuadro VIII.**, ver anexo), se procesaron un total de 44 muestras (n = 44).

Los muestreos se realizaron una vez a la semana, todos los mismos días por la mañana. Cada muestra estuvo constituida por filetes de pescadilla (*Cynoscion guatucupa*).

Las muestras se individualizaban adecuadamente y se mantenían en bolsas plásticas cerradas para evitar la contaminación cruzada.

Se transportaron en recipientes isotermos a temperatura de refrigeración (0 a 5 °C). El agente refrigerante utilizado fue gel vegetal apto para uso en alimentos, contenido en recipientes plásticos herméticos.

Para la toma de las muestras se utilizaron los métodos recomendados por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas de Alimentos (ICMSF).

### **5.3.2. Preparación de la muestra**

Se tomaron en forma aséptica 25 gramos de la muestra, se colocaron en bolsas plásticas estériles y la homogenización de las mismas se realizó por agitación con el diluyente (225 ml. de agua peptonada); se obtuvo así la solución madre 1:10. Posteriormente se procedió a la realización de las diluciones decimales: 1:100, 1:1.000, 1:10.000 y 1:100.000.

## **5.4. ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS**

Para realizar los análisis microbiológicos se utilizaron las técnicas recomendadas por el Bacteriological Analytical Manual (BAM) de la Food & Drug Administration (FDA), 1998.

### **5.4.1. Recuento de aerobios mesófilos**

Se utilizó la técnica de vertido en placa, el método consistió en contar las colonias que se desarrollaron en *Plate Count Agar* (PCA) después de 48 h. de incubación a  $35 \pm 2$  °C. Se depositó 1.0 ml de la muestra en placas estériles, luego se vertieron 15-20 ml del agar, para las diluciones: 1:100, 1:1.000, 1:10.000, 1:100.000 y se agitó suavemente formando círculos. La siembra se realizó por duplicado, para el recuento se seleccionaron las placas que contenían entre 30 y 300 colonias, se calculó la media y se multiplicó por el inverso de la dilución correspondiente. Suponiendo que cada colonia proviene de un microorganismo de la muestra bajo estudio, los resultados se reportaron como unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (u.f.c. / g).

### **5.4.2. Cuantificación presuntiva de *Staphylococcus aureus***

Se realizó una cuenta presuntiva de *Staphylococcus aureus* mediante siembra en superficie, en placas de Agar 110 estériles. Se distribuyó y extendió con asas de vidrio 1ml de muestra en 3 placas de Petri (0.3 ml, 0.3 ml y 0.4ml),

para las diluciones 1:10, 1:100 y 1:1.000. Luego de 48 h. de incubación a  $35 \pm 2$  °C, se contabilizaron las colonias de color anaranjado y se multiplico por el inverso de la dilución correspondiente. Suponiendo que cada colonia proviene de un microorganismo de la muestra bajo estudio, los resultados se reportaron como unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (u.f.c. / g).

#### **5.4.3. Detección de Coliformes totales y fecales**

Se utilizó la técnica de tubos de fermentación múltiple (dilución en 3 tubos) del Número Más Probable (NMP), el cual proporciona una estimación estadística de la densidad microbiana presente con base a que la probabilidad de obtener tubos con crecimiento positivo disminuye conforme es menor el volumen de muestra inoculado. El método se basa en que las bacterias coliformes, fermentan la lactosa, resultando en la producción de ácido y gas, el cuál se manifiesta en las campanas de fermentación. Se considero positivo todo tubo con gas y turbidez.

En el análisis presuntivo, las diluciones seriales de la muestra 1:10, 1:100 y 1:1.000 se inocularon en tubos con 9 ml de medio Caldo de Triptosa y Sulfato de Lauril, luego se incubaron a  $35 \pm 2$  °C durante 24-48 h. Los tubos positivos se separaron.

Para el análisis confirmatorio de coliformes totales, se repicaron los tubos positivos con asa de platino en tubos con 9 ml de medio Caldo de Verde Brillante, Bilis y Lactosa al 2%, luego de 24-48 h. de incubación a  $35 \pm 2$  °C se anoto el número de tubos positivos.

Para el análisis confirmatorio de coliformes fecales los tubos positivos del análisis presuntivo se repicaron en tubos con 9 ml de medio Caldo EC y luego de 24-48 h. de incubación en baño a 44.5 °C se anotaron los tubos positivos.

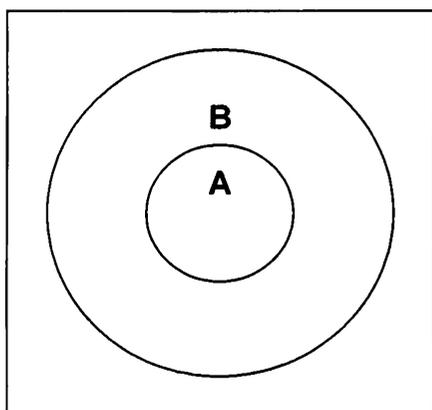
Se utilizaron las combinaciones de resultados positivos para consultar la tabla estadística del NMP, para 3 tubos, (**Cuadro IX.**, ver anexo) y así estimar el número de microorganismos presentes. Los resultados se reportaron como Número Más Probable por gramo (NMP/g).

### **5.5. DETERMINACIÓN OBJETIVA DEL GRADO DE FRESCURA**

La frescura se evaluó según el Método de Microdifusión de Conway y Byrne (1933) con modificaciones propuestas por el Instituto de Investigaciones Pesqueras (1969). Este método es muy preciso y su realización es adecuada para la dosificación del extractivo nitrogenado no proteico, Bases Nitrogenadas Volátiles Totales (BNVT), Nitrógeno de Trimetilamina (NTMA) y Trimetilamina (TMA) (Dragonetti, 1992).

#### **5.5.1. Método de Microdifusión de Conway**

Para dosificar se utilizaron las cámaras de Microdifusión de Conway que constan de una cámara central, una cámara externa y una tapa de vidrio esmerilado.



**A** = cámara central  
**B** = cámara externa

**Fig. II. Cámara de Conway**

Previo a colocar los reactivos se ponía vaselina en el perímetro exterior de la cámara externa para sellarla.

Para cada muestra los ensayos se realizaron por duplicado y se calculó la media del gasto de ácido clorhídrico.

### **5.5.2. Preparación de la muestra**

Se colocaron en una licuadora y homogeneizaron 25 g. de músculo de pescado con 75 ml. de ácido tricloroacético al 5% (este tiene como función coagular las proteínas).

Luego se procedió a filtrar para que la fracción proteica coagulada quedara retenida en el papel filtro y obtener así un defecado límpido, que tiene en solución las bases nitrogenadas no proteicas.

### **5.5.3. Valoración de BNVT**

En la cámara central se colocaron 2 ml. de ácido bórico al 1% (este tiene como finalidad captar las bases volátiles que se liberan durante la reacción).

En la cámara externa se depositaron 2 ml. del defecado; a continuación se procedió a colocar la tapa de vidrio esmerilado (con la parte esmerilada hacia abajo) dejando una pequeña ventana.

Por la ventana se agregaron 2 ml. de solución saturada de carbonato de potasio (que tiene como función alcalinizar el medio permitiendo que se liberen las bases), inmediatamente se cerró la ventana para que la cámara quedara sellada. La reacción se producía a temperatura ambiente, o sea a 18 °C – 20 °C, durante 24 h.

Una vez cumplido el tiempo de incubación se agregaron 2 o 3 gotas de Reactivo de Tashiro (RT) en la cámara central; si el ácido bórico había captado las bases, el reactivo viraba al verde esmeralda indicando medio alcalino.

Por último, se titulaba con ácido clorhídrico N/100 dejando caer gota a gota de una microbureta; en el momento que el RT viraba al violeta, indicaba medio ácido, se leía y registraba el gasto.

### 5.5.3.1. Cálculo

$$\text{Fórmula: } \frac{A \times B \times C \times 100}{D \times E \times F} [\text{mg}\%]$$

**A:** gasto de ácido clorhídrico (N/100)

**B:** peso molecular del Nitrógeno (14)

**C:** cantidad de agua en la que están disueltas las bases (95)

**D:** volumen de defecado utilizado (ml.)

**E:** peso de la muestra utilizada (gr.)

**F:** Normalidad del ácido clorhídrico (N/100)

**100:** para expresar el resultado en %

El gasto de ácido clorhídrico es el único que varía, las otras variables permanecen constantes.

A los efectos de operar con ellos se obtiene un factor que para este caso es de 26.6.

La media del gasto de ácido clorhídrico, se multiplicó por dicho factor y se obtuvo el resultado como mg BNVT/100 gr. de músculo.

### 5.5.4. Determinación de TMA

Se procedió igual que para la valoración de las BNVT; pero antes de agregar la solución saturada de carbonato de potasio, se añadieron 0.5 ml. de formol neutralizado (el cual retiene la Monometilamina y el Amoníaco). La Dimetilamina se libera en pequeñas cantidades y no es retenida, ya que no interfiere en los resultados porque las cantidades liberadas son inferiores a la sensibilidad del método.

#### 5.5.4.1. Cálculo

Se utilizó la misma formula que para las BNVT, pero se sustituyó el peso molecular del nitrógeno por el peso molecular de la TMA (59.1). Para calcular el resultado se multiplicó el nuevo factor (112.29) por el gasto promedio de ácido clorhídrico. El valor obtenido se reportó como mg TMA/100 gr. de músculo.

### 5.5.5. Valoración de NTMA

Se procedió igual que para la determinación de TMA.

#### 5.5.5.1. Cálculo

Para obtener los mg NTMA/100 gr. de músculo, se multiplicó el gasto promedio de ácido clorhídrico, por el factor de cálculo de las BNVT, que corresponde a 26.6, debido a que en este factor se tiene en cuenta el peso molecular del nitrógeno y no el de la Trimetilamina.

## 5.6. PARÁMETROS DE REFERENCIA

Para evaluar los resultados se tomaran como valores de referencia (limites de aceptabilidad) los exigidos por el Reglamento Bromatológico Nacional; Food & Drug Administration (FDA, 1998); I.C.M.S.F, 1986; la Normativa MERCOSUR; 1994 y Canadian Food Inspection Agency.

**Cuadro II.**  
**Límites Microbiológicos**

<b>Microorganismos</b>	<b>R.B.N. <sup>2</sup></b>	<b>I.C.M.S.F. <sup>3</sup></b>	<b>F.D.A.</b>	<b>C.F.I.A. <sup>4</sup></b>
Aerobios mesófilos (ufc/g)	1 x 10 <sup>6</sup>	5 x 10 <sup>5</sup>		
Coliformes fecales (NMP/g)		11		
<i>Staphylococcus aureus</i> (ufc/g)		1 x 10 <sup>3</sup>	1 x 10 <sup>4</sup>	1 x 10 <sup>3</sup>

**Cuadro III.**  
**Índices químicos exigidos**

<b>Parámetro</b>	<b>R.B.N.</b>	<b>MERCOSUR</b>	<b>Mercados<sup>5</sup></b>
BNVT (mg %)	30	30	25

**Cuadro IV.**  
**Índices de frescura**

<b>Estado del músculo</b>	<b>mg NTMA / 100 gr. de músculo</b>	<b>mg TMA / 100 gr. de músculo</b>
Fresco	0 a 10	0 a 40
Dudoso	11 a 20	41 a 84
Alterado	+ de 20	+ de 84

Fuente: Bertullo, 1970.

<sup>2</sup> Reglamento Bromatológico Nacional 315/994, límites para pescado y sus derivados.

<sup>3</sup> Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas de Alimentos, límites para filetes de pescado.

<sup>4</sup> Canadian Food Inspection Agency

<sup>5</sup> Para las BNVT se acepta según los mercados internacionales hasta 25 mg / 100 gr. de músculo, si bien el producto se encuentra apto para consumo humano con valores superiores a éste (Dragonetti, 1992).

### **5.6.1. Exigencias para los puestos de venta en ferias y su personal**

La reglamentación para los puestos de venta a través de las ferias exige que el material a usar en las estructuras y en los lugares donde se preparen alimentos sea de fácil limpieza (acero inoxidable).

En lo referente a instalaciones sanitarias, el agua a utilizar deberá ser potable, estar contenida en depósitos apropiados, en cantidades necesarias y ser dispensada mediante grifos.

Las aguas residuales se depositarán en lugares apropiados y se evacuarán al menos una vez al día (no en la vía pública). Los residuos sólidos se desecharán en recipientes con tapa, para impedir la contaminación de los alimentos y del agua potable.

Las obligaciones del permisario y del personal del puesto es mantener la higiene del mismo y del lugar de estacionamiento. La limpieza de las superficies de trabajo, los utensilios, etc. deberá realizarse al menos una por día utilizando los Procedimientos de Operación Estándar de Sanitización (POES).

El personal deberá cumplir con las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), usar vestimenta compuesta por saco y gorro de color claro y lucir limpia y sana, no usar guantes, lavarse las manos con agua y jabón antes y después de manipular alimentos, mantener las uñas cortas y limpias.

Quienes administren dinero no podrán tomar contacto directo con los alimentos.

## 6. RESULTADOS

En el Cuadro X. (ver anexo) se detallan los resultados, de los análisis realizados a las muestras de filetes de pescado (n=44). El planteo de los resultados obtenidos se hará según el estudio realizado, discriminado por los parámetros microbiológicos y químicos.

### 6.1. PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS

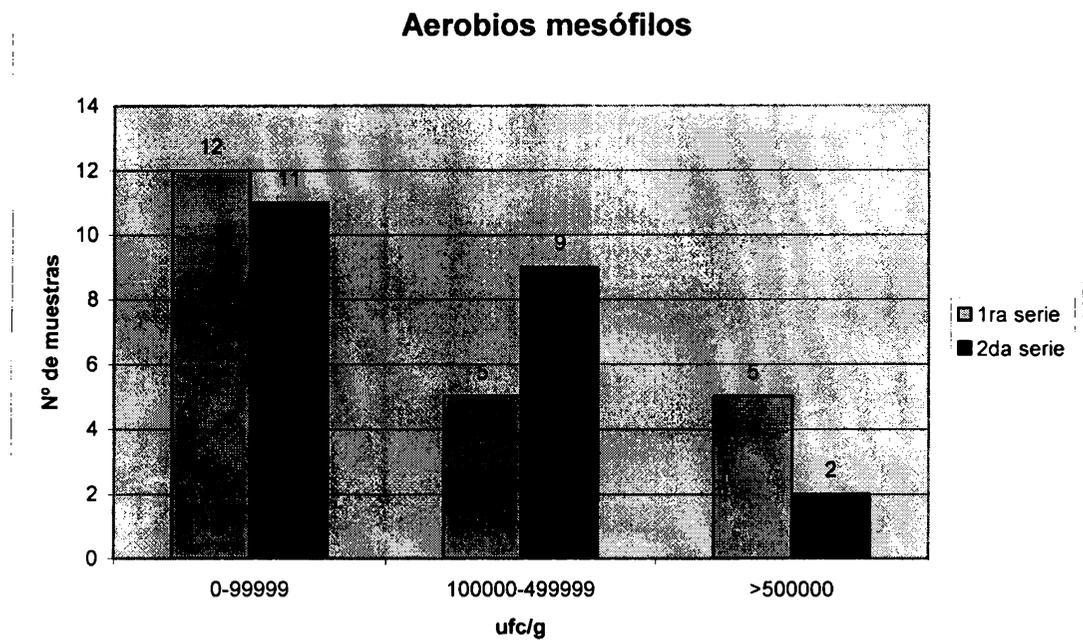


Figura III. Recuento total de aerobios mesófilos.

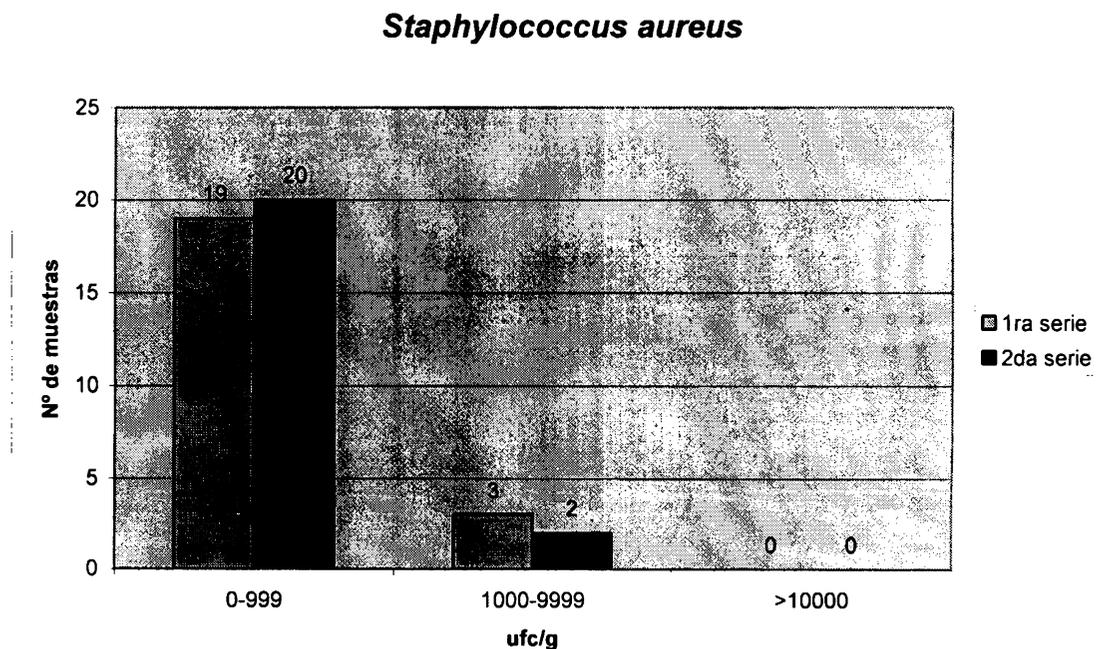


Figura IV. Cuantificación presuntiva de *Staphylococcus aureus*.

### Coliformes totales

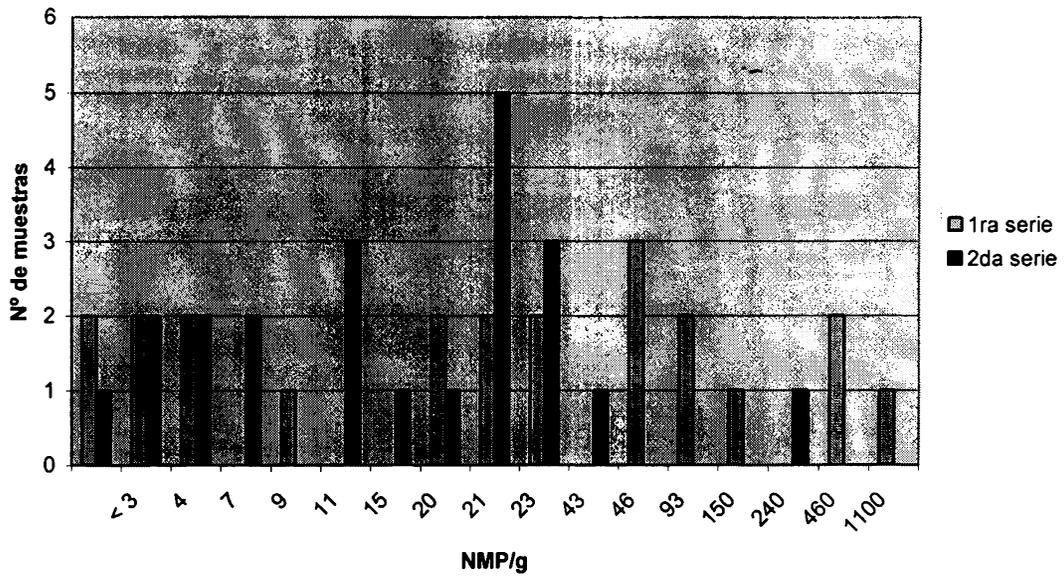


Figura V. Determinación de coliformes totales.

### Coliformes fecales

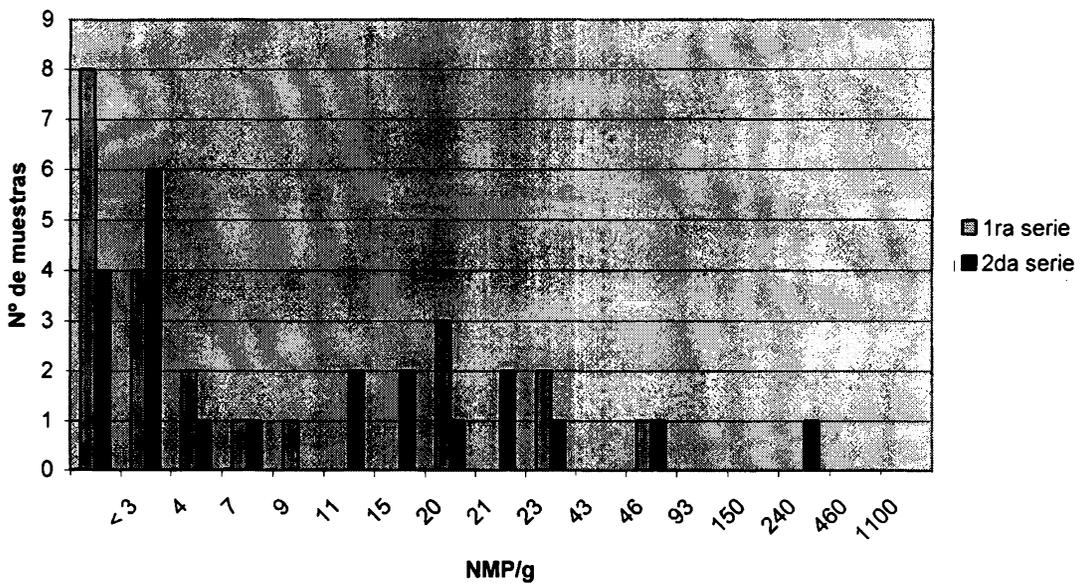


Figura VI. Determinación de coliformes fecales.

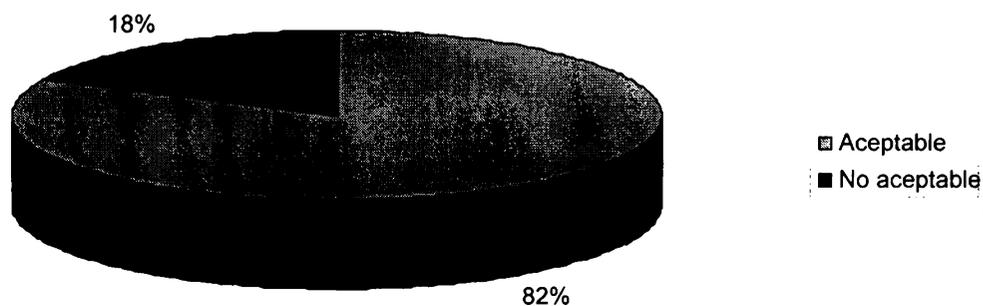
**Cuadro V.**  
**Número de muestras que superan los límites microbiológicos establecidos por ICMSF.**

Microorganismos	1ª serie	2ª serie	Total
Aerobios mesófilos ( $>5 \times 10^5$ ufc/g)	5	2	7 (16)*
<i>Staphylococcus aureus</i> ( $>1 \times 10^3$ ufc/g)	3	2	5 (11,6)*
Coliformes fecales ( $>11$ NMP/g)	6	10	16 (36)*

\* Los números entre paréntesis expresan porcentaje.

## 6.2. PARÁMETROS QUÍMICOS

### Bases Nitrogenadas Volátiles Totales



**Figura VII.** Resultado de Bases Nitrogenadas Volátiles Totales.

### Nitrógeno de Trimetilamina

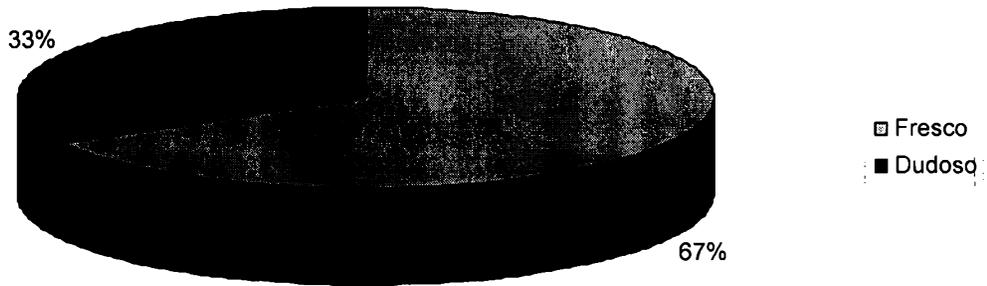


Figura VIII. Resultado de Nitrógeno de Trimetilamina.

### Nitrógeno de BNVT- NTMA (1ª serie)

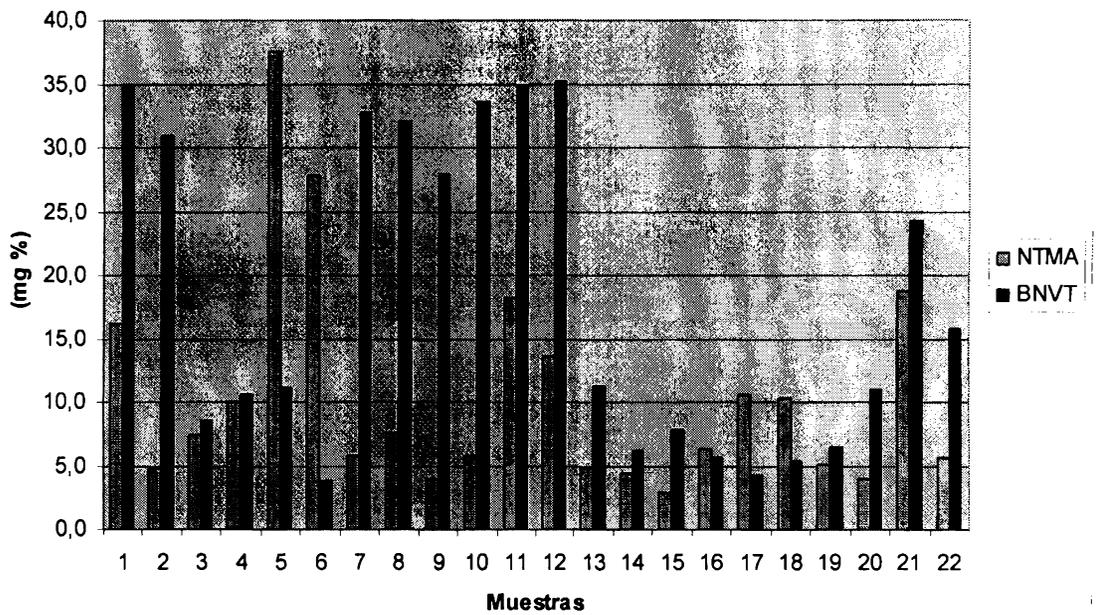
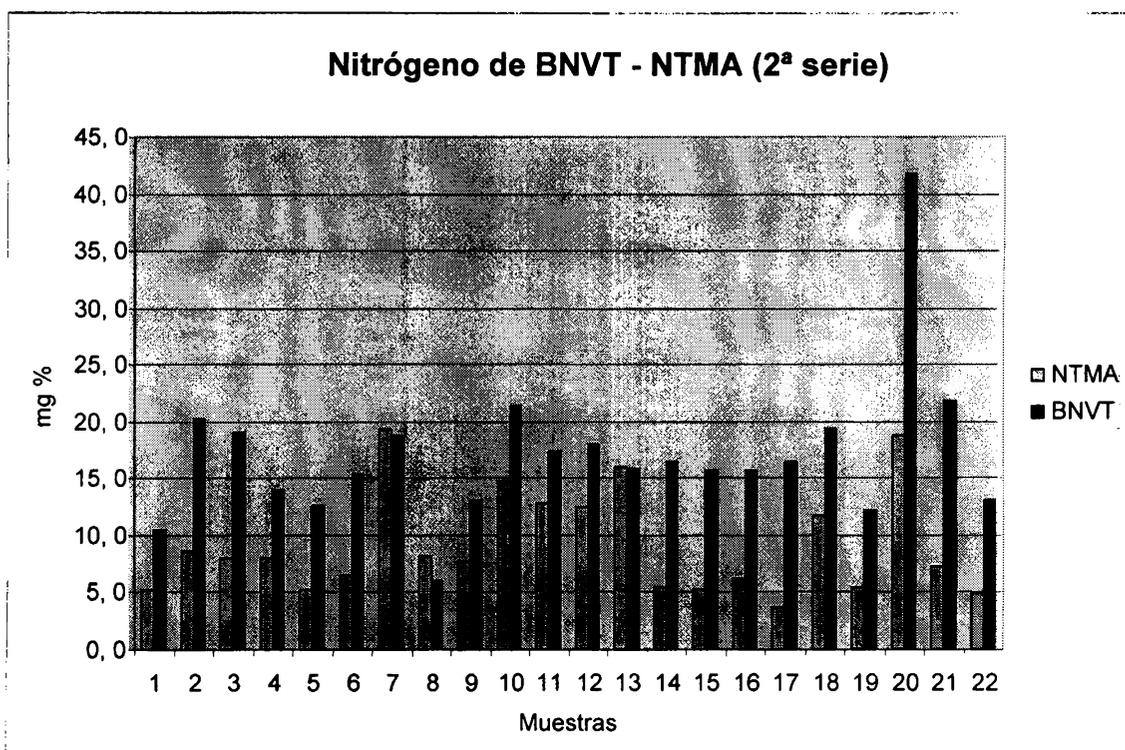


Figura IX. Comparación entre valores de Nitrógeno, en Bases Nitrogenadas Volátiles Totales (BNVT) y Nitrógeno de Trimetilamina (NTMA) (1ª serie).<sup>6</sup>

<sup>6</sup> Los valores obtenidos en las muestras 5, 6, 16, 17, y 18 se asumen como errores en la técnica.



**Figura X.** Comparación entre valores de Nitrógeno, en Bases Nitrogenadas Volátiles Totales (BNVT) y Nitrógeno de Trimetilamina (NTMA) (2ª serie).<sup>7</sup>

### 6.3. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS PUESTOS DE VENTA CALLEJEROS

Se realizó un análisis exploratorio y descriptivo de las instalaciones y el personal que trabajaba en los puestos (n=44). Se utilizó para el registro de los datos las fichas que se muestran en el **Cuadro XI**, (ver anexo). De las mismas se procesaron los siguientes datos:

**Cuadro VI.**  
**Datos del personal**

<b>Características</b>	<b>Porcentajes</b>
Vestimenta adecuada	18
Vestimenta limpia	75
Uso de guantes	36
Uso de accesorios	38

<sup>7</sup> Los valores obtenidos en las muestras 7 y 8 se asumen como errores en la técnica.

**Cuadro VII.**  
**Datos de los puestos**

<b>Características</b>	<b>Porcentajes</b>
Número de habilitación visible	59
Instalaciones de acero inoxidable	91
Vitrina cerrada (refrigerada)	59
Cuchillos de mango plástico	66
Aspecto general limpio	70
Agua disponible en recipientes	64
Refrigeración (hielo)	36

Las muestras fueron transportadas hacia el Instituto en cajas térmicas refrigeradas, la temperatura promedio a la llegada en el centro de la muestra fue de 4.7 °C.

En el estudio sensorial de las muestras se encontró que un 79% no presentaba alteraciones organolépticas descalificantes.



## 7. DISCUSION

En el recuento de aerobios mesófilos, el 9,1% de las muestras estudiadas superaron los límites establecidos por el Reglamento Bromatológico Nacional para pescado y sus derivados. Sin embargo, si consideramos los límites establecidos por ICMSF esta cifra se convierte en un 16%, o sea que nuestras leyes son menos exigentes que las internacionales. Los resultados anteriores dejan en evidencia las prácticas de limpieza ineficientes por parte de los trabajadores y/o que los filetes son mantenidos a temperatura ambiente. Mossel, citado por Estevao Belchior y Pucci (2000), señala que el recuento en placa es uno de los principales criterios de aceptación de los productos alimenticios.

Respecto a la contaminación de origen fecal el 36% de las muestras estuvieron por encima de los límites establecidos. Considerando que en el pescado entero no manufacturado, la contaminación por enterobacterias no es significativa y dado que en la flora normal de los mismos no se encuentra este grupo de microorganismos (Mossel, citado por OPS, 1996), cabe destacar que su presencia en los filetes es indicadora de contaminación a partir del agua de lavado, las tablas de filetear (Spencer y Georgala, citado por Bertullo, 1975), o la mala higiene personal.

Se verificó que *Staphylococcus aureus*, estuvo presente en niveles superiores a lo permitido en 11,6% de las muestras analizadas. La presencia de *Staph. aureus* sugiere que los manipuladores de pescado son portadores de este tipo de gérmenes y según Le Minor y Marth, citado por De Buyser (1994), se diseminan a partir de la nariz a la piel, manos, cara y al ambiente, aire, suelo, agua, ropa, etc. por lo tanto si carecen de buenos hábitos higiénicos los alimentos resultan contaminados. Hayes (1993), sostiene que debe minimizarse la contaminación cruzada de los alimentos cocidos con los crudos y con las superficies, equipos y utensilios sucios.

En el análisis microbiológico que informa sobre la calidad higiénico sanitaria, cabe destacar que el 47% de las muestras, no se consideran aptas para consumo humano, considerando los límites microbiológicos de la ICMSF.

Se puede destacar de lo expuesto, que el R.B.N., cap. 14; sec. 1, Pescado y Productos Pesqueros, debe ser revisado, ya que no incluye criterios microbiológicos para patógenos (*E. coli*, *Staph. aureus*).

El grado de frescura de los filetes se determinó mediante el estudio analítico de BNVT, ya que cuanto menor es su valor, más frescos son los mismos (Bertullo, 1975). De las muestras procesadas el 18% no cumplen con la normativa establecida por el R.B.N. y la Normativa Mercosur; si consideramos las exigencias de otros mercados internacionales la cifra aumenta al 20%. Los resultados obtenidos para NTMA y TMA, demuestran que el producto se hallaba fresco en el 67% y dudoso en el 33% de las muestras. Dyer; Castell *et al.*, citados por Pons (2005), proponen la determinación del NTMA como método objetivo para evaluar la calidad higiénico sanitaria del pescado de aguas saladas.

Se realizó un estudio comparativo entre los valores del Nitrógeno en BNVT y en NTMA, para tener una idea de la validez de los componentes de las BNVT,

ya que en las dos se valora la fracción nitrogenada. El componente mayoritario de la fracción de las BNVT es el NTMA (Pons, 2005), determinado en músculo de pescado fresco.

Tras un período de latencia, los niveles de NTMA aumentan siguiendo el perfil de una curva exponencial (Veciana-Nogués *et al.*, citado por Pons, 2005), lo que concuerda con el comportamiento del crecimiento bacteriano. Este hecho ha llevado a algunos autores a establecer correlaciones entre los niveles de NTMA y el recuento total de microorganismos (Wong y Gill; Wong *et al.*; Pastoriza *et al.*, citados por Pons, 2005). En el 91% de las muestras analizadas no se encontró una relación directa entre los valores de NTMA y la Carga Bacteriana Total (CBT).

Se toma como hipótesis, que puede deberse a que los filetes de pescado son tratados con agua clorada para desodorizarlos, lo que disminuye la carga microbiana pero no afecta los valores de NTMA presentes en el músculo, por lo que se enmascara la acción bacteriana, ya que si bien disminuye la carga, no lo hace con las aminas biógenas que se han formado por acción de éstas. Este tratamiento realizado al agua, debe considerarse incorrecto, ya que la cantidad de cloro agregada puede exceder las concentraciones permitidas, lo que puede ser perjudicial. Para las plantas pesqueras, el agua a utilizar en las mesas de fileteado debe contener una concentración de cloro de 3-5 p.p.m., y para la desinfección de las superficies, posterior a una adecuada limpieza al finalizar la jornada, deben emplearse concentraciones de 25 hasta 200 p.p.m. de cloro (Friss, 1997), según Burgess, (1987) la concentración debe ser de 25 a 50 p.p.m.

En la inspección realizada a los puestos móviles, destinados a la venta de pescados y subproductos, se pudo verificar que no todos exhiben el número de permiso que les otorga Bromatología. En cuanto a las instalaciones el 91% cumplía con lo exigido sobre el material de las mismas; alrededor del 64% tenía recipientes o baldes para depósito de agua, y cabe destacar que tan solo el 18% de los trabajadores usaba la vestimenta adecuada como se exige para el área de alimentos.

El 64% de los puestos visitados en las diversas ferias, exhibían los filetes de pescado sin hielo. Graham (1992), sostiene, que para prolongar la vida útil del pescado es importante enfriarlo lo antes posible y mantenerlo refrigerado; y afirma además, que el hielo como medio de enfriamiento ofrece numerosas ventajas ya que tiene, gran capacidad refrigerante, es inocuo y relativamente barato. Murray y Shewan, citado por Huss (1998), encontraron que sólo un número limitado de bacterias invade el músculo durante el almacenamiento en hielo.

## **8. CONCLUSIONES**

En base a los resultados obtenidos en nuestro trabajo concluimos que:

- El análisis microbiológico indica que el 47% de los filetes de pescado, estudiados, expendidos en las ferias de Montevideo, no son aptos para ser comercializados, pudiendo representar esto un riesgo para los consumidores.
- Respecto a la frescura de los filetes, el 82% se encuentra dentro de los parámetros aceptables para consumo humano y el 18% de los mismos supera el límite de aceptación de acuerdo a los valores exigidos para las BNVT.
- Se puede verificar que los puestos de venta de pescado presentan ciertas deficiencias en sus instalaciones, equipos y aspectos higiénico-sanitarios. Se observan inadecuados sistemas, de refrigeración (falta de hielo), de abastecimiento de agua potable y de eliminación de residuos, tanto líquidos como sólidos. En cuanto al personal que manipula el pescado cabe destacar el incumplimiento en el uso de la vestimenta adecuada para tal operación.

## **9. RECOMENDACIONES**

- Incrementar el control en los puestos de venta de pescado, por parte de las autoridades competentes, para asegurar la inocuidad y la aptitud de este tipo de productos (filetes). Aunque son bajos los riesgos, pueden producirse ETA por el consumo de los mismos.
- Desarrollar programas de capacitación en higiene de alimentos a todas las personas que tengan contacto directo con los mismos (vendedores, manipuladores, etc.), a fin de promover la adopción de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y los Procedimientos de Operación Estándar de Sanitización (POES), para mejorar las condiciones higiénico sanitarias de los puestos de venta.
- Informar a los vendedores de pescado sobre; las ventajas de usar hielo como método de refrigeración, siendo éste uno de los puntos esenciales para lograr aumentar la vida útil de los filetes; como prevenir la contaminación cruzada, evitando colocar vegetales entre los filetes durante la exhibición de los mismos.
- Promover acuerdos entre las autoridades municipales y los permisarios a fin de realizar un reordenamiento de los puestos de venta de pescado en las ferias. Esto sugiere además la conveniencia de llevar adelante un programa de mejoramiento de la infraestructura de apoyo al comercio callejero teniendo como metas prioritarias, la provisión de servicios básicos en las calles, como, el abastecimiento de agua potable, la correcta disposición de residuos sólidos y líquidos y la disponibilidad de gabinetes higiénicos. Estos requisitos se consideran indispensables para garantizar las condiciones mínimas de seguridad alimentarias.
- Instruir a los consumidores sobre la forma de proteger sus alimentos de la contaminación por patógenos, aplicando medidas apropiadas de higiene en la compra, transporte, almacenamiento doméstico y preparación correcta. El riesgo de contraer una ETA se puede minimizar, manteniendo siempre la cadena de frío y cocinando adecuadamente los filetes antes de su consumo.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

1. Abgrall, B. (1994). Pescado y otros productos marinos. En: Burgeois, C. M. *et al.* Microbiología alimentaria: Aspectos microbiológicos de la seguridad y calidad alimentaria. Zaragoza, Acribia. pp. 263-267.
2. Acuña, A. M. *et al.* (2002). Enfermedades transmitidas por alimentos en Uruguay. [s.l.]: Panalimentos: OPS. 203p.
3. Andrews, W. H.; Hammack, T. S. (2001). Food Sampling and Preparation of Sample Homogenate. Cap. 1. En: Bacteriological Analytical Manual [online]. U.S. Food and Drug Administration. -> Disponible en Internet: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-1.html>> Fecha de consulta: 12 de Setiembre de 2005.
4. Arámbulo P. *et al.* (1995). La Venta de Alimentos en la Vía Pública en América Latina. Bol. Oficina Sanit Panam 118(2). ->Disponible en Internet: <<http://bvs.panaftosa.org.br/textoc/Belotto-venta-alimentos-1995.pdf>> Fecha de consulta: 1 de Junio de 2007.
5. Bennett, R.W.; Lancette, G. A. (2001). Staphylococcus aureus. Cap. 12. En: Bacteriological Analytical Manual [online]. U.S. Food and Drug Administration. Disponible en Internet: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-12.html>> Fecha de consulta: 12 de Setiembre de 2005.
6. Bertullo, V. H. (1975). Tecnología de los Productos y Subproductos de Pescados, Moluscos y Crustáceos. Buenos Aires, Hemisferio Sur. 538p.
7. Bertullo, V. H. (1970). Tecnología de los Productos de la Pesca: ejercicios prácticos. Montevideo, Bolsa del Libro de la Asociación de Estudiantes de Veterinaria. 117p.
8. Burgess, G.H.O. *et al.* (1987). El pescado y las Industrias Derivadas de la Pesca. Zaragoza, Acribia. 392p.
9. Canadian Food Inspection Agency. ->Disponible en Internet: <<http://www.inspection.gc.ca>> Fecha de consulta: 16 de Mayo de 2007.
10. Carvajal Carranza, G. *et al.* (1991). Microbiología de los Alimentos Marinos. Lima, CONCYTEC. 164p.
11. Castro González, M. (2002). Ácidos grasos omega 3: beneficios y fuentes. INCI. [online]. 27(3):128-136. -> Disponible en Internet: <[http://www2.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442002000300005&lng=es&nrm=iso](http://www2.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442002000300005&lng=es&nrm=iso)> Fecha de consulta: 25 de Mayo de 2007.
12. Corbo M. R. *et al.* (2005). Estimating packaging atmosphere-temperature effects on the shelf life of cod fillets. Eur. Food Res. Technol. 220:509-513.
13. De Buyser, M. L. (1994). Los estafilococos. En: Burgeois, C. M. *et al.* Microbiología alimentaria: Aspectos microbiológicos de la seguridad y calidad alimentaria. Zaragoza, Acribia. pp. 67-77.

14. Dragonetti, J. P. (1992). Métodos objetivos. Repartido de clase. Facultad de Veterinaria. Montevideo, Instituto de Investigaciones Pesqueras Prof. Dr. V. H. Bertullo. 4p.
15. Estevao Belchior, S. y Pucci, O.H. (2000). Controles microbiológicos y puntos de control en una planta elaboradora de filete de merluza para exportación. *ALAN*. [online] 50(2):171-176. ->Disponible en Internet: <[http://www2.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222000000200010&lng=es&nrm=iso](http://www2.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222000000200010&lng=es&nrm=iso)> Fecha de consulta: 25 de Abril de 2007.
16. FAO/OMS (1998). Codex Alimentarius: Requisitos Generales (Higiene de los Alimentos) 2ª ed. Roma, FAO/OMS, Supl. V. 1B. 55p.
17. Farchmin, G. (1967) Inspección Veterinaria de Alimentos. Zaragoza, Acribia. 427p.
18. Feng, P. *et al.* (2001). Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Cap. 4. En: Bacteriological Analytical Manual [online]. U.S. Food and Drug Administration. ->Disponible en Internet: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html>> Fecha de consulta: 12 de Setiembre de 2005.
19. Friss de Kereki, C. (1997). Industria pesquera: guía didáctica. Proyecto Institucional: Métodos Alternativos de Aprendizaje (MEAAP/UAP). Facultad de Veterinaria. Montevideo, Instituto de Investigaciones Pesqueras Prof. Dr. V. H. Bertullo. 14p.
20. Graham, J. *et al.* (1993). El hielo en las pesquerías. FAO. Documento Técnico de Pesca, N° 331. Roma. FAO. 75p. -> Disponible en Internet: <<http://www.fao.org/DOCREP/003/T0713S/T0713S00.HTM>> Fecha de consulta: 3 de Junio de 2007.
21. Hayes, P. R. (1993). Microbiología e Higiene de los alimentos. Zaragoza, Acribia. 369p.
22. Huss, H. H. (Ed.) (1998). El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad. FAO. Documento Técnico de Pesca, N° 348. Roma. FAO. 202p. -> Disponible en Internet: <<http://www.fao.org/DOCREP/V7180S/v7180s01.htm>> Fecha de consulta: 25 de Mayo de 2007.
23. Huss, H. H. (1997). Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros. FAO. Documento Técnico de Pesca, N° 334. Roma. 174p.
24. ICMSF (International Commission Microbiological Specifications for Foods) (1986). Microorganisms in Foods. Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Specific Applications, 2ª ed. University of Toronto Press, Buffalo, NY. ->Disponible en Internet: <<http://seafood.ucdavis.edu/organize/icmsf.htm>> Fecha de consulta: 12 de Setiembre de 2005.
25. ICMSF (International Commission Microbiological Specifications for Foods) (1983). Microorganismos de los alimentos: Técnicas de análisis microbiológico. Vol.1. 2ª ed. Zaragoza, Acribia. 431p.

26. ICMSF (International Commission Microbiological Specifications for Foods) (1983). Microorganismos de los alimentos: Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: principios y aplicaciones específicas. Vol.2. 2ª ed. Zaragoza, Acribia. 215p.
27. Jay, J. M. (2000). Microbiología moderna de los alimentos. 4ª ed. Zaragoza, Acribia. 615p.
28. Lengomín Fernández, M. E. (1997). Riesgos en la venta de alimentos en las calles. *Aliment Nutr* 11(2):79-83. -> Disponible en Internet: <[http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol11\\_2\\_97/ali01297.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol11_2_97/ali01297.htm)> Fecha de consulta: 1 de Junio de 2007.
29. Ludorff, W.; Meyer, V. (1978). El pescado y los productos de la pesca, 2ª ed. Zaragoza, Acribia. 337 p.
30. Márquez Figueroa, Y. *et al.* (2006). Cambios físicos, químicos y microbiológicos observados durante el proceso tecnológico de la conserva de atún. *Zootecnia Tropical* 24(1):17-29. ->Disponible en Internet: <<http://www.bioline.org.br/request?zt06002>>Fecha de consulta: 31 de Mayo de 2007.
31. Maturin, L. J.; Peeler, J. T. (2001). Aerobic Plate Count. Cap. 14. En: Bacteriological Analytical Manual [online]. U.S. Food and Drug Administration. ->Disponible en Internet: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-3.html>> Fecha de consulta: 12 de Setiembre de 2005.
32. Medina Pizzali, A. F. (1997). Equipos e instalaciones de bajo costo para la comercialización minorista de pescado. FAO. Documento Técnico de Pesca, N° 363, Roma. 105p. -> Disponible en Internet: <<http://www.fao.org/docrep/003/W5831S/W5831S00.HTM>> Fecha de consulta: 31 de Mayo de 2007.
33. MERCOSUR/GMC/RES N° 40/94. -> Disponible en Internet: <<http://www.cancilleria.gov.ar/comercio/mercosur/normativa/resolucion/1994/res4094.html>> Fecha de consulta: 16 de Noviembre de 2006.
34. Mescle, J. F.; Zucca, J. (1994). Origen de los microorganismos en los alimentos. En: Burgeois, C. M. *et al.* Microbiología alimentaria: Aspectos microbiológicos de la seguridad y calidad alimentaria. Zaragoza, Acribia. pp. 9-35.
35. México. Secretaría de Salud. Dirección General de Calidad Sanitaria de Bienes y Servicios (2000). Seminario sobre venta de alimentos en la vía pública / Seminary on foods sale in the street. México. Secretaría de Salud. 110p. ->Disponible en Internet: <<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IscScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=278616&indexSearch=ID>> Fecha de consulta: 1 de Junio de 2007.
36. Nion, H. *et al.* (2002). Peces del Uruguay: Lista sistemática y nombres comunes. Montevideo. Dirección Nacional de Recursos Acuáticos. Infopesca Internacional. 105p.

37. Oliveira, C. *et al.* (2000). Deterioro del pescado: guía didáctica. Proyecto Institucional: Métodos Alternativos de Aprendizaje (MEAAP/UAP). Facultad de Veterinaria. Montevideo, Instituto de Investigaciones Pesqueras Prof. Dr. V. H. Bertullo. 15p.
38. Organización Panamericana de la Salud (1996). Contaminación microbiana de los alimentos vendidos en la vía pública. OPS/HCP/HCV/96, 22. Washington. 176p.
39. Pérez Salmerón, L. A. (1985). Higiene y control de los productos de la pesca. México, Compañía Editorial Continental S. A. 162p.
40. Pigott, G. M.; Tucker, B. (1990). Seafood: Effects of Technology on Nutrition. New York. Dekker. 362p.
41. Pons, S. (2005). Estudio de alternativas para la evaluación de la frescura y la calidad del boquerón (*Engraulis encrasicolus*) y sus derivados. Tesis. Facultad de Farmacia. Departamento de Nutrición y Farmacia, Barcelona. 289p. -> Disponible en Internet: [http://www.tesisenxarxa.net/TESIS\\_UB/AVAILABLE/TDX-0907105-090359//TESIS\\_SOFIA\\_PONS.pdf](http://www.tesisenxarxa.net/TESIS_UB/AVAILABLE/TDX-0907105-090359//TESIS_SOFIA_PONS.pdf) Fecha de consulta: 9 de Mayo de 2007.
42. Sikorski, Z. E. (1994). Tecnología de los productos del mar: recursos, composición nutritiva y conservación. Zaragoza, Acribia. 331p.
43. Uruguay (2001). Reglamento Bromatológico Nacional. Decreto N° 315/994. Montevideo, IMPO. 144p.
44. U.S. Food and Drug Administration FDA/CFSAN (2001). Fish and Fisheries Products Hazards & Controls Guidance. 3ª ed. Appendix 5. FDA & EPA Safety Levels in Regulations and Guidance. -> Disponible en Internet: <http://www.cfsan.fda.gov/~comm/haccp4x5.html> Fecha de consulta: 12 de Setiembre de 2005.
45. Wiefels, R. C.; Avdalov, N. (1997). El mercado del pescado en Montevideo. Serie: El Mercado en las grandes ciudades de América Latina. Infopesca Internacional 1: 52.
46. Yeannes, M. I. (2002). La evaluación sensorial y los productos pesqueros. Infopesca Internacional 12: 32-41.

## 11. ANEXOS

### Cuadro VIII.

#### Ferias vecinales de los días martes

Direcciones
*Martínez Trueba y Canelones
*Ana Monterroso y Joaquín Requena
Lombardini y Comercio
*Williman y José Ma. Montero
*Plaza de los Olímpicos
Cubo del Norte y Millán
Alzaibar y Buenos Aires
*Dionisio Oribe y Fco. Simón
Dr. Couture y Arocena
*Plaza Lezica
Villavicencio y Santa Lucia
Julio Herrera y Obes y Maldonado
*Villa Biarritz
Acevedo Díaz y Canelones
*Iturriaga y Pereyra de la Luz
*Secco Illa y Centenario
*Instrucciones y José M <sup>a</sup> . Silva
*León Pérez y Burgues
28 de Febrero y Elías Regules
Emilio Castelar y Roberto Berro

\* Ferias muestreadas, seleccionadas al azar.

### Cuadro IX.

**Tabla del Número Más Probable (NMP)**

Número de tubos positivos			NMP / g ó ml	Límites de aceptación de 95%	
1:10	1:100	1:1000		Inferior	Superior
0	0	0	< 3		
0	0	1	3	< 0.5	9
0	1	0	3	< 0.5	13
1	0	0	4	< 0.5	20
1	0	1	7	1	21
1	1	0	7	1	23
1	1	1	11	3	36
1	2	0	11	3	36
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	150
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130
3	0	2	64	15	380
3	1	0	43	7	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	3	0	240	36	1.300
3	3	1	460	71	2.400
3	3	2	1100	150	4.800
3	3	3	>2400		

Fuente: FDA - Bacteriological Analytical Manual, 1992.

**Cuadro X.**  
**Resultados microbiológicos y químicos de las muestras de filetes**

Serie	Mtra. N°	Fecha	Aerobios totales ufc/g	<i>S. aureus</i> ufc/g	Colif.totales NMP/g	Colif.fecales NMP/g	BNVT mg %	TMA mg %	NTMA mg %
1 <sup>a</sup>	1	25/10/2005	1,0E+04	0	43	7	35,0	68,5	16,2
1 <sup>a</sup>	2	25/10/2005	2,0E+04	100	21	21	30,9	20,2	4,8
1 <sup>a</sup>	3	08/11/2005	4,9E+04	50	4	< 3	8,5	31,4	7,4
1 <sup>a</sup>	4	08/11/2005	1,7E+04	s/datos	< 3	< 3	10,6	42,7	10,1
1 <sup>a</sup>	5	15/11/2005	1,3E+06	3500	11	11	11,1	s/datos	37,8
1 <sup>a</sup>	6	15/11/2005	7,0E+05	40	7	< 3	3,9	s/datos	27,9
1 <sup>a</sup>	7	22/11/2005	4,9E+05	20	43	7	32,8	24,7	5,8
1 <sup>a</sup>	8	22/11/2005	8,5E+05	20	23	9	32,1	32,0	7,5
1 <sup>a</sup>	9	22/11/2005	2,7E+05	50	4	4	28,0	16,8	4,0
1 <sup>a</sup>	10	29/11/2005	5,0E+04	0	7	< 3	33,6	24,7	5,8
1 <sup>a</sup>	11	29/11/2005	9,4E+04	0	21	< 3	34,8	77,5	18,3
1 <sup>a</sup>	12	29/11/2005	3,7E+04	0	150	43	35,2	57,8	13,6
1 <sup>a</sup>	13	28/03/2006	3,2E+06	325	240	93	11,3	20,2	4,8
1 <sup>a</sup>	14	28/03/2006	1,3E+06	1327	93	4	6,1	18,5	4,4
1 <sup>a</sup>	15	04/04/2006	2,6E+04	540	93	4	7,8	12,4	2,9
1 <sup>a</sup>	16	04/04/2006	3,0E+05	290	1100	< 3	5,6	26,9	6,3
1 <sup>a</sup>	17	18/04/2006	3,3E+04	310	> 2400	43	4,3	44,9	10,6
1 <sup>a</sup>	18	18/04/2006	2,3E+05	80	150	21	5,3	43,8	10,3
1 <sup>a</sup>	19	18/04/2006	8,8E+04	175	23	4	6,5	21,3	5,0
1 <sup>a</sup>	20	25/04/2006	1,8E+04	40	1100	< 3	10,9	16,8	4,0
1 <sup>a</sup>	21	25/04/2006	5,9E+03	90	< 3	< 3	24,2	79,7	18,8
1 <sup>a</sup>	22	02/05/2006	4,0E+05	1130	93	21	15,7	24,1	5,7
2 <sup>a</sup>	1	13/06/2006	2,3E+04	165	15	4	10,4	21,9	5,2
2 <sup>a</sup>	2	13/06/2006	6,2E+04	373	7	15	20,3	36,5	8,6
2 <sup>a</sup>	3	07/04/2006	2,8E+05	3307	9	7	19,0	34,0	8,0
2 <sup>a</sup>	4	07/04/2006	7,4E+04	653	43	23	14,0	34,0	8,0
2 <sup>a</sup>	5	27/06/2006	8,5E+04	743	4	4	12,6	21,9	5,2
2 <sup>a</sup>	6	27/06/2006	3,7E+04	1365	23	23	15,4	27,5	6,5
2 <sup>a</sup>	7	30/05/2006	2,4E+05	75	23	< 3	18,8	81,9	19,3
2 <sup>a</sup>	8	30/05/2006	7,4E+05	100	46	93	6,0	34,8	8,2
2 <sup>a</sup>	9	30/05/2006	8,4E+04	110	23	9	13,0	32,6	7,7
2 <sup>a</sup>	10	23/05/2006	4,2E+05	70	21	4	21,4	62,9	14,8
2 <sup>a</sup>	11	23/05/2006	2,7E+05	65	23	4	17,4	53,9	12,7
2 <sup>a</sup>	12	23/05/2006	1,5E+05	20	23	< 3	18,0	52,7	12,4
2 <sup>a</sup>	13	07/04/2006	1,5E+05	180	4	4	15,8	67,9	16,0
2 <sup>a</sup>	14	07/04/2006	7,0E+02	747	28	20	16,5	22,5	5,3
2 <sup>a</sup>	15	20/06/2006	6,6E+03	0	< 3	< 3	15,7	21,9	5,2
2 <sup>a</sup>	16	20/06/2006	3,9E+03	0	9	< 3	15,7	25,8	6,1
2 <sup>a</sup>	17	06/06/2006	2,2E+06	795	43	21	16,5	15,7	3,7
2 <sup>a</sup>	18	06/06/2006	2,2E+05	923	20	43	19,3	49,4	11,6
2 <sup>a</sup>	19	06/06/2006	4,0E+05	635	460	460	12,1	22,5	5,3
2 <sup>a</sup>	20	20/06/2006	2,2E+05	80	15	4	41,7	79,7	18,8
2 <sup>a</sup>	21	27/06/2006	8,3E+03	10	15	20	21,8	30,8	7,3
2 <sup>a</sup>	22	13/06/2006	2,6E+03	135	7	15	13,0	20,8	4,9

**Cuadro XI.**  
**Ficha utilizada para la recolección de muestras**

Fecha ...../...../.....

MUESTRA N°.....

Dirección de la Feria: .....

Hora:.....

N° de habilitación del puesto:.....

Alimento recolectado:.....

Olor:     Fresco         Dudoso         Alterado

Temperatura de la muestra al llegar al Instituto (°C):.....

Temperatura ambiente (°C):    Mín. ....        Máx. ....

Observaciones:.....

<b>del Puesto</b>	<b>Condiciones</b>	<b>del Personal</b>
Aspecto: <input type="checkbox"/> Limpio <input type="checkbox"/> Sucio		N° de personas que trabajan:.....
Instalaciones: <input type="checkbox"/> Vitrina <input type="checkbox"/> Mesada		Vestimenta adecuada: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No
Material de las instalaciones: <input type="checkbox"/> Madera <input type="checkbox"/> Plástico <input type="checkbox"/> Acero inox.		Estado de la vestimenta: <input type="checkbox"/> Limpia <input type="checkbox"/> Sucia <input type="checkbox"/> Rota
Método de conservación: <input type="checkbox"/> Con hielo <input type="checkbox"/> Sin hielo		Uso de guantes: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No
Utensilios: <input type="checkbox"/> Cuchillos c/ mango..... <input type="checkbox"/> Chaira c/ mango ..... <input type="checkbox"/> Tabla sanitaria		Accesorios: <input type="checkbox"/> Caravanas <input type="checkbox"/> Anillos <input type="checkbox"/> Pulseras <input type="checkbox"/> Reloj <input type="checkbox"/> Uñas pintadas
Agua disponible: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		
Elementos inadecuados: <input type="checkbox"/> Cigarrillos <input type="checkbox"/> Chicles <input type="checkbox"/> Mate <input type="checkbox"/> Comida <input type="checkbox"/> Bebida		Pelo: <input type="checkbox"/> Cofia <input type="checkbox"/> Suelto <input type="checkbox"/> Recogido

Observaciones:-----  
-----

**RECuento DE AEROBIOS MESOFILOS (P.C.A.) 35-37°C 48 h.**

Dilución -2	Placa I.....	Placa II.....	Promedio:.....
Dilución -3	Placa I.....	Placa II.....	Promedio:.....
Dilución -4	Placa I.....	Placa II.....	Promedio:.....
Dilución -5	Placa I.....	Placa II.....	Promedio:.....

**RESULTADO:** .....

**RECuento DE STAPHYLOCOCCUS (110 AGAR) 35-37°C 48h.**

Dilución -1	Placa 0,3.....	Placa 0,3.....	Placa 0,4.....	Total.....
Dilución -2	Placa 0,3.....	Placa 0,3.....	Placa 0,4.....	Total.....
Dilución -3	Placa 0,3.....	Placa 0,3.....	Placa 0,4.....	Total.....

**RESULTADO:** .....

**ENUMERACION DE COLIFORMES (NMP)**

**ENSAYO DE PRESUNCION 35-37°C 24-48 h. Caldo de Triptosa y Sulfato de Lauril**

Dilución -1	<b>Positivos</b>	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Total .....
Dilución -2	<b>Positivos</b>	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Total .....
Dilución -3	<b>Positivos</b>	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Total .....

**CONFIRMACION COLIF. TOTALES 35-37°C 24-48 h. Caldo Bilis Verde Brillante**

Dilución -1	<b>Positivos</b>	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Total .....
Dilución -2	<b>Positivos</b>	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Total .....
Dilución -3	<b>Positivos</b>	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Total .....

**RESULTADO según Tabla:** .....

**CONFIRMACION COLIF. FECALES Baño 44,5°C 24-48 h. Caldo EC**

Dilución -1	<b>Positivos</b>	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Total .....
Dilución -2	<b>Positivos</b>	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Total .....
Dilución -3	<b>Positivos</b>	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Tubo ... / ...	Total .....

**RESULTADO según Tabla:** .....

**CÁLCULO DE:**

**BNVT** 24 h. Temp. ambiente

**TMA** 24 h. Temp. ambiente

I) Gasto de ac. Clorhídrico:.....ml.

I) Gasto de ac. Clorhídrico:.....ml.

II) Gasto de ac. Clorhídrico:.....ml.

II) Gasto de ac. Clorhídrico:.....ml.

Prom.:.....x 26,6 = ----- mg %

Prom.:.....x 112,29 = ----- mg %

**NTMA** 24 h. Temp. ambiente. Prom. de TMA ..... x 26.6 = ----- mg%