



Facultad de Veterinaria
Universidad de la República
Uruguay



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

Evaluación de la capacidad histaminogénica de Lacha (*Brevoortia aurea*).

Por

**Diego Elías GÉREZ FIORITTI
María Fernanda PAIVA RODRIGUEZ**

**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: Situación problema

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2022**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:


Dra. Lucia Trujillo

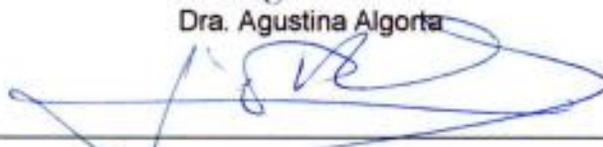
Segundo miembro (tutor):


Dr. Santiago Díaz

Tercer miembro:


Dra. Agustina Algorta

Co tutor:


Dr. José Pedro Dragonetti

Co tutor:


Lic., MSc. Ignacio Alcántara

Fecha:

11 / 11 / 2022

Autores:


Diego Elías Gérez Fioritti


María Fernanda Paiva Rodríguez

AGRADECIMIENTOS

A nuestras familias y amigos por el apoyo y estímulo brindado durante los años de estudio.

A nuestros tutores Dr. Santiago Díaz, Dr. José Pedro Dragonetti y Lic., MSc. Ignacio Alcántara, por su aporte académico y el permanente apoyo brindado en esta instancia de la carrera.

A la profesora Antonella Olivera por su apoyo y colaboración.

Al Dr. Gonzalo Crosi, Sr. Pablo Gandini y al Ing. Agrónomo Gabriel Fagúndez por los conocimientos brindados.

A la Q.F. Lucila Silva y T.Q. Gabriela Escobar, del área de análisis químico instrumental y bioensayo (LAPP- DINARA).

Al personal de biblioteca de la Facultad de Veterinaria, por la ayuda en la búsqueda de bibliografía.

A la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República por darnos la oportunidad de formarnos como profesionales.

Finalmente, a todos aquellos, que de alguna manera u otra nos acompañaron durante todo el recorrido.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN	2
1- RESUMEN	8
2- SUMMARY	9
3. INTRODUCCIÓN	10
3.1. Características de la Lacha (<i>Brevoortia aurea</i>)	11
3.1.1. Morfología.....	11
3.1.2. Ciclo Vital.....	12
3.1.3. Distribución e importancia comercial	12
3.3. Formación de histamina	14
3.4. Intoxicación por histamina	15
3.4.1. Patogenia y manifestaciones clínicas.....	16
3.4.2. Diagnóstico, prevención y tratamiento.....	16
3.5. Marco regulatorio de la histamina en productos de la pesca	17
3.6. Determinación de histamina.	17
3.6.1. Técnicas para detección y cuantificación de histamina	17
3.6.2. Análisis semicuantitativo de histamina: kit comercial Reveal® para Histamina.....	18
3.7. Bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) y Trimetilamina (TMA)	19
3.8. Evaluación subjetiva de la frescura	20
3.8.1. Apariencia general	21
3.8.1.1. Color.....	21
3.8.1.2. Olor.....	22
3.8.1.3. Textura y elasticidad.....	22
4. OBJETIVOS	24
4.1. OBJETIVO GENERAL:	24
4.2. OBJETIVOS PARTICULARES:	24
5. MATERIALES Y MÉTODOS	25
6. RESULTADOS	28
6.1 Lacha almacenada a temperatura entre 0-2°C (Serie 1)	28
6.2 Lacha almacenada a temperatura entre 6-8°C (Serie 2)	29
6.3 Lacha almacenada a temperatura ambiente (Serie 3)	30
6.4. Comportamiento de las concentraciones de BNVT en las 3 series, con relación al tiempo considerando el resultado final de histamina.	31
7. DISCUSIÓN	34

8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	36
9- ANEXOS	37
10. BIBLIOGRAFÍA	40

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

Tabla 1	Comparación de los métodos de ensayo más utilizados para determinación de los niveles de histamina. Modificado de	18
Tabla 2	Compuestos responsables de los diferentes olores que podemos encontrar en el pescado.....	22
Tabla 3	Resumen de los resultados de las evaluaciones sensoriales, de frescura, así como el resultado del test de histamina realizadas sobre la serie almacenada a temperatura entre 0-2°C.....	28
Tabla 4	Resumen de los resultados de las evaluaciones sensoriales, de frescura, así como el resultado del test de histamina realizadas sobre la serie a temperatura 6-8°C.....	29
Tabla 5	Resumen de los resultados de las evaluaciones sensoriales, de frescura, así como el resultado del test de histamina realizadas sobre la Lacha a temperatura ambiente entre 13-20°C.....	30
Tabla 6	Registro diario de temperatura, frescura, BNVT, TMA, NTMA y histamina.....	37
Tabla 7	Planilla de registro de evaluación sensorial.....	38
Tabla 8	Planilla de temperatura.....	39
Tabla 9	Planilla de temperatura mañana y tarde.....	39

FIGURAS

Figura 1	Ejemplares de Lachas frescas acondicionadas en caja con hielo en escamas	12
Figura 2	Área de distribución geográfica de la Lacha en América del sur indicado con rojo	13
Figura 3	Tiras reactivas del kit comercial Reveal® para histamina.....	19
Figura 4	Placas de microdifusión de conwey utilizadas para la determinación de bases nitrogenadas volátiles totales y trimetilamina.	20
Figura 5	Evaluación subjetiva de la frescura.	21
Figura 6	Diagrama de actividades realizadas.	26
Figura 7	Comparación entre producción de BNVT y evaluación de la frescura de la serie almacenada a temperatura entre 0- 2°C. Considerando el resultado final de histamina.....	29
Figura 8	Comparación entre producción de BNVT y evaluación de la frescura de la serie sometida a temperatura 6-8°C. Considerando el resultado final de histamina	30
Figura 9	Comparación entre producción de BNVT y evaluación de la frescura de la Lacha a temperatura ambiente entre 13-20°C. Considerando el resultado final de histamina.....	31
Figura 10	Comportamiento de las concentraciones de BNVT en las 3 series, con relación al tiempo considerando el resultado final de histamina.....	32

Figura 11 Comportamiento de la evaluación sensorial de las 3 series con relación al tiempo considerando el resultado final de histamina..... 33

1- RESUMEN

La intoxicación por histamina es un problema de alcance mundial en los países donde los consumidores ingieren pescado que contiene altos niveles de esta (Huss, 1997; Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/World Health Organization (WHO), 2013), provocando en las personas una intoxicación alimentaria, llamada "escombroidosis" o intoxicación por histamina que puede llegar a provocar la muerte (FAO/WHO, 2013). Dicha intoxicación se encuentra subdiagnosticada, ya que se suele confundir sus síntomas con una alergia alimentaria (reacción de hipersensibilidad mediados por IgE) (FAO/WHO, 2013). Ese potencial alérgico puede verse aumentado por otras aminos biógenas como putrescina y cadaverina (Riscado, Maia y Teixeira, 2012; Souza, Calixto, Mesquita, Packness y Azeredo, 2016; Evangelista et al., 2016; Visciano, Schirone, Tofalo y Suzzi, 2014). La Lacha (*Brevoortia aurea*) es una especie pelágica perteneciente a la familia *Clupeidae* (Froese y Pauly, 2022; Maestro del cura, 2012). Según la bibliografía, es considerada una especie capaz de producir histamina por sus altas concentraciones de histidina (FAO/WHO, 2013). Se consideró de importancia su evaluación debido a que no existe información científica de la presencia de histamina en esta especie, y además al creciente interés de países en la compra de grandes cantidades de toneladas de Lacha, así como de estudios relacionados a un mejor aprovechamiento tecnológico en la elaboración de subproductos (FAO/WHO, 2013; Dirección Nacional de Recursos Acuáticos (DINARA), 2019; Pennisi, 2013). El presente trabajo de tesis pretende realizar un aporte a la industria pesquera, en relación a la utilización de una especie marina de bajo valor comercial en Uruguay, como la Lacha (DINARA, 2019). La información recabada permitirá darle utilidad a esta especie la cual se pesca mediante la flota artesanal a lo largo del año con red de enmalle en las costas de Montevideo y Canelones (DINARA, 2019). A nivel industrial, es extraída como fauna acompañante durante la zafra de otras especies como Corvina (*Micropogonias furnieri*) y Sábalo (*Prochilodus lineatus*), esta especie tiene un bajo valor comercial, siendo descartada años atrás y en la actualidad nuevamente se comercializa a mercados asiáticos (DINARA, 2019). Para esta experiencia se utilizaron ejemplares refrigerados de Lacha provenientes de la pesca artesanal. Se realizó un seguimiento de la formación de histamina en tres lotes, almacenados a diferentes temperaturas a los cuales se los denominó serie 1, serie 2 y serie 3. La serie 1 se mantuvo en cámara en condiciones de refrigeración próximas al punto de fusión del hielo, a temperaturas de 0-2°C con la adición periódica de hielo en escamas. La serie 2 se mantuvo en cámara en condiciones próximas a la refrigeración, a temperaturas de 6- 8°C. Para esta serie durante el almacenamiento en cámara no se realizó el agregado de hielo. Por último, a la serie 3 se la mantuvo a temperatura ambiente, que osciló entre 13-20°C, fuera de la cámara y sin agregado de hielo. A las tres series se le realizaron las mismas determinaciones cada 48 horas. Para esto se tomaron dos ejemplares y se determinaron las concentraciones de histamina mediante KIT comercial Reveal® para Histamina, bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT), trimetilamina (TMA) y nitrógeno de trimetilamina (NTMA) mediante el método de microdifusión de Conway. Se evaluó subjetivamente la descomposición por evaluación sensorial. Las muestras positivas de histamina (niveles mayores a 50 ppm) fueron enviadas al laboratorio para su cuantificación a través del método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Malle, Valle, y Bouquelet, 1996). Los resultados de este ensayo indicarían que la formación de histamina en Lacha no sería un problema para la salud y la industria, ya que antes de que las concentraciones de histamina sean elevadas en el pescado, éste se pudre.

2- SUMMARY

Histamine poisoning is a worldwide problem in countries where consumers eat fish containing high levels of histamine (Huss, 1997; Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/World Health Organization (WHO), 2013) This causes people food poisoning, called scombroid fish poisoning or histamine poisoning that can lead to death (FAO / WHO, 2013) This poisoning is underdiagnosed since its symptoms are often confused with a food allergy (IgE-mediated hypersensitivity reaction) (FAO/WHO, 2013) This allergic potential may be increased by other biogenic amines such as putrescine and cadaverine (Riscado, Maia and Teixeira, 2012; Souza, Calixto, Mesquita, Packness and Azeredo, 2016; Evangelista et al., 2016; Visciano, Schirone, Tofalo and Suzzi, 2014) The Menhaden (*Brevoortia aurea*) is a pelagic species belonging to the *Clupeidae* family (Froese and Pauly, 2022; Maestro del cura, 2012). According to the literature, it is considered a species capable of producing histamine due to its high concentrations of histidine (FAO/WHO, 2013). Its evaluation was considered important due to the lack of scientific information on the presence of histamine in this species, and also to the growing interest of countries in the purchase of large quantities of tons of Menhaden, as well as studies related to better technological use in the production of by-products (FAO/WHO, 2013; National Directorate of Aquatic Resources (DINARA), 2019; Pennisi, 2013) This thesis aims to contribute to the fishing industry, concerning the use of a marine species of low commercial value in Uruguay, such as the Menhaden (DINARA, 2019). The information collected will allow this species to be used, which is fished by the artisanal fleet throughout the year with gill nets on the coasts of Montevideo and Canelones (DINARA, 2019). At an industrial level, it is extracted as accompanying fauna during the harvest of other species such as Croaker (*Micropogonias furnieri*) and Sábalo (*Prochilodus lineatus*), this species has a low commercial value, being discarded years ago and nowadays it is commercialized again to Asian markets (DINARA, 2019). For this experience, refrigerated specimens of Menhaden from artisanal fishing were used. Histamine formation was monitored in three batches, stored at different temperatures, which were called Series 1, Series 2 and Series 3. Series 1 was kept in a chamber under refrigeration conditions close to the melting point of ice, at temperatures of 0-2°C with the periodic addition of flake ice. Series 2 was kept in a chamber in conditions close to refrigeration, at temperatures of 6 to 8°C. Ice was not added, for this series, during storage in the chamber. Finally, Series 3 was kept at room temperature, which ranged between 13-20°C, outside the chamber and without the addition of ice. The same determinations were made to the three series every 48 hours. For this, two specimens were taken and the histamine concentrations were determined using the commercial Reveal® para Histamina KIT, total volatile nitrogenous bases (VTBN), trimethylamine (TMA), and trimethylamine nitrogen (NTMA) using the Conway microdiffusion method. Decomposition was subjectively evaluated by sensory evaluation. Histamine-positive samples (levels greater than 50 ppm) were sent to the laboratory for quantification using the high-resolution liquid chromatography (HPLC) (Malle, Valle, and Bouquelet, 1996) The results of this essay would indicate that the formulation of histamine in Menhaden fish would not be a problem for health and the industry, since before the concentrations of histamine are high in the fish, it rots.

3. INTRODUCCIÓN

Lacha (*Brevoortia aurea*) es una de las especies de mayor desembarque de la pesca artesanal en Uruguay junto con la Corvina y el Sábalo (DINARA, 2019). Según el último boletín estadístico de la Dinara para el año 2018 el desembarque artesanal de esta especie fue de 2.971 toneladas (DINARA, 2019). La captura de Lacha en Uruguay tiene como principal destino la exportación, siendo su principal mercado Bangladesh (DINARA, 2019).

Se la conoce bajo el nombre de Saraca en Argentina, Lacha en Uruguay y Savela en Brasil (Pennisi, 2013). Pertenece al Phylum *Chordata*, Clase *Actinopterygii*, Orden *Clupeiformes*, Familia *Clupeidae*, Genero *Brevoortia*, Especie *B. aurea*. (Froese y Pauly, 2022)

Peces de las familias *Scombridae* y *Clupeidae* suelen presentar mayores niveles de histidina libre en el músculo (Gomes, 2008; Riscado et al., 2012). En el proceso de degradación post mortem se libera aún más cantidad de histidina, aspecto que debe ser considerado como crítico durante su procesamiento en la industria pesquera (Gomes, 2008; Riscado et al., 2012).

El potencial de producir intoxicación de la Histamina, sumado a su termoestabilidad hacen que la industria pesquera deba considerarlo como uno de los principales peligros a controlar al momento de procesar especies con potencial histamino formador (Riscado et al., 2012; Souza et al., 2016; Evangelista et al., 2016; Visciano et al., 2014). El potencial alérgico puede verse aumentado por otras aminos biógenas como putrescina y cadaverina (Riscado et al., 2012; Souza et al., 2016; Evangelista et al., 2016; Visciano et al., 2014).

Niveles altos de esta sustancia en el pescado son un problema de alcance mundial, principalmente en los países que son grandes consumidores de este tipo de alimento, causando una intoxicación de tipo alimentaria (Huss, 1997; FAO/ WHO, 2013).

La sintomatología provocada por el consumo de histamina es en general leve, con un período de incubación muy corto y una duración de la enfermedad corta (European Food Safety Authority (EFSA), 2011). Los síntomas se asocian con los efectos producidos sobre los vasos sanguíneos y los músculos lisos, e incluyen dolor de cabeza, secreción nasal, broncoespasmo, taquicardia, extrasístoles, hipotensión, edema palpebral, urticaria, prurito, rubor y asma (EFSA, 2011; Souza et al., 2016). Debido a su potencial tóxico resulta de importancia la determinación de esta amina biógena en la Lacha (Pons, 2005; FAO/ WHO, 2013).

Hasta el momento, se han desarrollado diversos métodos para la determinación y cuantificación de la histamina en peces (Pons, 2005; FAO/ WHO, 2013). Existen métodos fluorométricos, espectrofluorométricos, ensayo de inmunoabsorción ligados a enzimas (ELISA), prueba de enzimas colorimétricas y cromatografía, siendo los métodos más aplicados en el análisis de histamina (Pons, 2005; FAO/ WHO, 2013).

3.1. Características de la Lacha (*Brevoortia aurea*)

3.1.1. Morfología

Lacha es un pez que alcanza una longitud entre 30 y 40 centímetros, de cuerpo alto, comprimido lateralmente (Figura 1) (Bertullo y Pollak, 1998). Tanto el perfil superior como el inferior son convexos, siendo la curvatura inferior más pronunciada, sobre todo en la línea pre-anal (Cousseau y Díaz de Astarloa, 1993).

Posee una aleta dorsal corta de posición media, un par de aletas ventrales pequeñas, provistas de escamas de posición abdominal (Bertullo y Pollak, 1998; Gianglobbe y Sánchez, 1993; Cousseau y Díaz de Astarloa, 1993). Un par de aletas pectorales ubicadas en el tercio inferior de los flancos de forma redondeada, aleta anal de posición posterior, y una aleta caudal homocerca (Ayçaguer, Amaro, Pin y Mar del Plata, 1998; Bertullo y Pollak, 1998; Gianglobbe y Sánchez, 1993; Cousseau y Díaz de Astarloa, 1993).

Las escamas son grandes y delgadas, presentan una forma aproximadamente rectangular y ligeramente cóncava (Bertullo y Pollak, 1998; Morales y López, 1985).

La cabeza cuenta con aparato opercular completo y bien desarrollado (Bertullo y Pollak, 1998; Cousseau y Díaz de Astarloa, 1993). Su hocico romo y boca protractil, desprovista de dientes (Bertullo y Pollak, 1998; Cousseau y Díaz de Astarloa, 1993). En relación a los ojos son de tamaño moderado, cubiertos por membrana adiposa que deja en el centro una abertura de contorno oval (Bertullo y Pollak, 1998; Cousseau y Díaz de Astarloa, 1993).

Posee tres planos de huesos intermusculares: un primer plano debajo de la fascia superficial, un plano medio y un tercero profundo (Bertullo y Pollak, 1998). En óptimo estado de frescura la especie presenta una coloración oscura a nivel dorsal, con flancos y vientre plateado (Cousseau y Díaz de Astarloa, 1993). Tanto a nivel de la cabeza, pedúnculo caudal y base de la aleta anal presenta una tonalidad amarillo oro sobre fondo blanco (Cousseau y Díaz de Astarloa, 1993). En la región del tronco presentan una mancha característica negra redondeada al lado del extremo superior de la sección vertical de la abertura opercular (Cousseau y Díaz de Astarloa, 1993). Presenta aletas dorsal y caudal amarillo oscuro con bordes negro, anal amarillo más claro, pectoral y ventral transparente (Cousseau y Díaz de Astarloa, 1993).



Figura 1. Ejemplares de Lachas frescas acondicionadas en caja con hielo en escamas. Gérez y Paiva, 2022.

3.1.2. Ciclo Vital

El género *Brevoortia* presenta un periodo de desarrollo hasta alcanzar la o las etapas de reproducción (Pennisi, 2013). En una primera etapa los individuos juveniles utilizan la energía adquirida para el crecimiento y la supervivencia (Pennisi, 2013). Al alcanzar la madurez, la cual varía y depende de cada especie, destina esta energía a los diversos procesos reproductivos (Pennisi, 2013). Para maximizar el éxito reproductivo, un individuo debe repartir sus recursos energéticos adecuadamente y, además, debe procurar que su descendencia nazca en las condiciones medioambientales adecuadas (Pennisi, 2013).

Su época reproductiva es muy prolongada, hallándose huevos en el plancton durante casi todo el año, con un período principal durante la primavera (Acha, 1999). Lacha es un desovante múltiple con fecundidad anual indeterminada, de modo tal que cada hembra desova en varias oportunidades dentro de una estación reproductiva (Acha, 1999).

3.1.3. Distribución e importancia comercial

Brevoortia aurea se distribuye geográficamente en el Océano Atlántico Sudoccidental, entre Salvador de Bahía y los 40°31`S en Argentina (Figura 2). (Rodríguez, 2016; Bertullo y Pollak, 1998; Cousseau y Díaz de Astarloa, 1993). Se considera una especie eurihalina (Rodríguez, 2016). Sus mayores concentraciones se localizan en profundidades menores a 10 metros (Rodríguez, 2016). Es un pez filtrador que se alimenta de diatomeas y dinoflagelados en sus primeras etapas de desarrollo y mayoritariamente de copépodos en su etapa adulta (Giangiobbe y Sánchez, 1993).

Lacha es una de las especies de mayor desembarque de la pesca artesanal junto con la Corvina y el Sábalo (DINARA, 2019). En Uruguay, se destina principalmente a la exportación, siendo su principal mercado Bangladesh, según la comunicación personal de los doctores Santiago Diaz y José Pedro Dragonetti. En relación al mercado interno se lo utiliza como carnada, tanto para la pesquería de Cangrejo rojo (*Chaceon notalis*), como en el uso para palangres de pesquerías artesanales (Bertullo y Pollak, 1998). Esta especie se encuentra explotada incidentalmente por la flota costera industrial, siendo capturada por la pesca artesanal en las costas de Montevideo y Canelones, principalmente con red de enmalle (Norbis, Paesch, Verocai, Villamarín, 1992; Rodríguez, 2016).

La composición química de esta especie es poco conocida, en parte por la escasa importancia comercial que presenta en la región, la cual se debe a la gran cantidad de espinas presentes en toda su estructura muscular (Adkins y Kelley, 2010; Bertullo y Pollak, 1998). Al igual que otras especies marinas pelágicas como: anchoa, arenque, caballa, bonito y atún, la Lacha se caracterizan por ser un pez graso, con valores que pueden ser superiores al 20% de grasa en el músculo (Adkins y Kelley, 2010). En la composición de los lípidos intervienen fundamentalmente los ácidos grasos poliinsaturados, como omega 3 y 6, que son benéficos para la salud (Adkins y Kelley, 2010).

Actualmente este tipo de alimentos, tiene una enorme aceptación entre los consumidores que hoy no sólo buscan una nutrición básica, sino que prefieren aquellos alimentos que mejoran su salud y por consiguiente su calidad de vida (Pennisi, 2013). Teniendo en cuenta que los volúmenes capturados son elevados en varios países, en Argentina se han estudiado alternativas tecnológicas que permitan la elaboración de productos y subproductos a partir de esta especie (Pennisi, 2013).



Figura 2. Área de distribución geográfica de la Lacha en América del sur indicado con rojo. Adaptado de Pennisi, S.C., 2013

3.2. Aminas biógenas: histamina

Las aminas biógenas son compuestos nitrogenados de bajo peso molecular que se forman principalmente por la descarboxilación de aminoácidos (Fernández y Álvarez, 2005). Las más frecuentes son histamina, tiramina, putrescina, cadaverina, triptamina, β -feniletilamina, espermina y espermidina (Fernández y Álvarez, 2005). Las intoxicaciones alimentarias más frecuentes están relacionadas con la histamina y tiramina, cuyos aminoácidos precursores son la histidina y tirosina (Fernández y Álvarez, 2005).

La histamina es una sustancia endógena que se produce naturalmente en el cuerpo humano, desempeñando importantes funciones fisiológicas relacionadas con las respuestas inmunes de la mucosa intestinal, secreción de ácido gástrico y neuromodulación (Evangelista et al., 2016; FDA, 2013). También puede estar presente en un gran número de alimentos, y es generado por ciertas bacterias durante el deterioro y la fermentación del pescado (Evangelista et al., 2016; FDA, 2013).

La histamina en el alimento se produce a través de la descarboxilación de histidina libre por descarboxilasas exógenas liberadas por microorganismos (Visciano et al., 2014). En el pescado fresco, la presencia de histamina es difícil de encontrar, pero su nivel aumenta con el progreso de la descomposición (Visciano et al., 2014). Los microorganismos presentes naturalmente en las branquias y en el intestino de los peces vivos comienzan a multiplicarse después de la muerte debido a que los mecanismos de barreras del pez son inactivos (Visciano et al., 2014).

3.3. Formación de histamina

La histamina es una amina biogénica producida en el tejido de los peces a través de dos caminos: uno de ellos es autolítico o por degradación catabólica de la histidina por enzimas intrínsecas del tejido; y el otro es por degradación bacteriana por acción de amino-descarboxilasas producidas por microorganismos (Sotodosos, Íñigo, Mourelo y Fernández, 2019). La vía degradativa bacteriana es la que produce mayor cantidad de histamina y tiene por lo tanto mayor impacto sobre la calidad de un alimento (Sotodosos et al., 2019; Valls, 2002). Ambas vías pueden ocurrir en un producto pesquero, sin embargo, por ser la segunda la que produce mayor cantidad de histamina, ha sido la más estudiada (Valls, 2002).

Algunos géneros bacterianos conocidos por producir histamina incluyen: *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Morganella psychrotolerans*, *Photobacterium phosphoreum*, *Photobacterium psychrotolerans*, *Photobacterium damsela*, *Citrobacter koseri*, *Aeromonas hydrophila*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Clostridium perfringens*, *Vibrio spp.*, *Pseudomonas spp.* y *Enterobacter spp.* (Sotodosos et al, 2019).

La microbiota formadora de histamina en los peces se ve influenciada por diferentes factores, como los hábitos de alimentación, la ubicación geográfica, los artes de pesca, la temporada, la temperatura y salinidad del agua, la calidad del agua en la cosecha y la forma en que el producto es manejado después de la cosecha (López, Rodríguez, Hernández y Mora, 1996).

Cuando la enzima histidina descarboxilasa está presente en el pescado, puede seguir produciendo histamina en él, aunque las bacterias no estén activas (FDA, 2021). La mayoría de las bacterias formadoras de histamina son mesófilas; es decir crecen a temperatura entre 7 y 10°C, sin embargo, investigaciones recientes indican que *Morganella psychrotolerans* y *Photobacterium phosphoreum* producen cantidades significativas de histamina a temperaturas de 0 a 5° C (EFSA, 2015). Además del efecto de la temperatura en el crecimiento bacteriano y la producción enzimática, hay que tener en cuenta que la actividad de la propia enzima una vez formada es independiente de la temperatura (EFSA, 2015). Así, la histidina descarboxilasa generada durante el almacenamiento del pescado a altas temperaturas, continúa activa a temperaturas inferiores y es responsable de la producción de histamina a 5 °C o por debajo (EFSA, 2015).

Se debe señalar que, una vez producida la histamina en el pescado, el riesgo de que provoque la enfermedad es muy alto (Huss, 1997). La histamina es muy resistente al calor, y aunque el pescado se haya cocido, enlatado o haya sido sometido a cualquier otro tratamiento térmico antes de su consumo, la histamina no se destruye (Huss, 1997).

3.4. Intoxicación por histamina

La intoxicación por histamina es un problema de alcance mundial en los países donde los consumidores ingieren pescado que contiene altos niveles de histamina (FAO/WHO, 2013). Es la intoxicación por pescados más frecuente, aunque a menudo infradiagnosticada o asimilada como reacción alérgica (Hernández et al., 2020). Algunos autores afirman que se desconoce la incidencia exacta de esta enfermedad en el ámbito mundial debido a la confusión de sus síntomas con los de otras enfermedades, a la carencia de información por parte de los médicos y a la ausencia de informes (Delgado, Gutiérrez y Hurtado, 2003). Tiene una distribución mundial, siendo más frecuentes en lugares donde la conservación y el transporte del pescado se realiza de forma rudimentaria y sin los controles adecuados (Lijo y Domínguez, 2013). No suelen ser frecuentes las declaraciones de alerta internacionales por histamina, sin embargo, la aparición de brotes es relativamente frecuente (EFSA, 2019). Según datos europeos, se detectaron 80 brotes de la enfermedad en 2018, asociados principalmente al consumo de pescados y derivados, afectando a 488 personas de las cuales el 23% requirió hospitalización (EFSA, 2019). Entre 2009 y 2013 se detectaron 40 brotes de la enfermedad en Estados Unidos, de los cuales afectó a un total de 136 personas (González, Díaz, Moncayo y Marín, 2020). En 1973 en Japón ocurrió el mayor brote de esta intoxicación, involucrando a un total de 2653 personas afectadas (González et al., 2020).

Históricamente, esta intoxicación se denominó intoxicación por escómbridos debido a la frecuente asociación con peces de la Familia *Scombridae*, entre los que se incluyen el atún y caballa (Huss, 1997; FAO/WHO, 2013). Aunque también pescados distintos a los escómbridos como los de la familia *Clupeidae*, *Coryphaena*, *Engraulidae*, *Pomatomidae*, *Scomberesocidae*, entre otras, pueden provocar la intoxicación por histamina (Huss, 1997; FAO/WHO, 2013). Las especies más implicadas en los brotes son la sardina, el boquerón, el arenque, el marlín, el pez azul, el salmón y el pez espada (Huss, 1997; FAO/WHO, 2013).

3.4.1. Patogenia y manifestaciones clínicas

La enfermedad producida por el consumo de pescados con altos niveles de histamina es del tipo benigna, los signos y síntomas ocurren de varios minutos a horas después de la ingestión de la amina (EFSA, 2011; Souza et al., 2016). Generalmente las manifestaciones clínicas son de corta duración, pero puede extenderse a varios días (EFSA, 2011; Souza et al., 2016). Los síntomas se relacionan con los efectos sobre los vasos sanguíneos y los músculos lisos, e incluyen dolor de cabeza, secreción nasal, broncoespasmo, taquicardia, extrasístoles, hipotensión, edema palpebral, urticaria, prurito, rubor y asma (EFSA, 2011; Souza et al., 2016). La variabilidad de los síntomas dependerá de la cantidad de histamina ingerida o la sensibilidad individual (Visciano et al., 2014). El cuerpo humano tolera una cierta cantidad de histamina sin ninguna reacción (Huss, 1997).

Una vez ingerida la histamina será metabolizada en el tracto intestinal por al menos dos enzimas, la diamina oxidasa (DAO) y la histamina N-metiltransferasa (HMT) (Huss, 1997). Este mecanismo de protección puede eliminarse si la ingestión de histamina y otras aminas biógenas es muy alta, o si las enzimas son bloqueadas por otros compuestos (Huss, 1997). La ingestión de alimentos que contienen pequeñas cantidades de histamina tiene poco efecto en individuos sanos, pero puede resultar en intolerancia a la histamina en personas caracterizadas por deterioro de la DAO, ya sea por predisposición genética, enfermedades gastrointestinales o medicación con monoamino oxidasa (MAO) (Visciano et al., 2014).

La actividad tóxica de la histamina se ve reforzada por la presencia de otras aminas biógenas, tales como tiramina, cadaverina y putrescina, que se producen concomitantemente con histamina (Souza et al., 2016; Evangelista et al., 2016; Visciano et al., 2014). Se producen con la descarboxilación de sus aminoácidos que se encuentran en la forma libre, es decir, tirosina, lisina y arginina (Souza et al., 2016; Evangelista et al., 2016; Visciano et al., 2014).

3.4.2. Diagnóstico, prevención y tratamiento

El diagnóstico se realiza principalmente en forma clínica y se basa en determinar la concentración de histamina en muestras del pescado sospechoso (Rego y Rodríguez, 2013). Generalmente es difícil disponer de una muestra del alimento responsable, por lo que puede también determinarse la concentración de histamina en sangre y orina de los pacientes (Rego y Rodríguez, 2013).

Aunque el riesgo para una intoxicación por histamina lo tiene cualquier persona que consume este tipo de alimentos, existen medidas preventivas para evitarla: como el mantenimiento de una baja temperatura durante el almacenamiento de los productos de la pesca en todo momento; evitar el consumo de este tipo de pescados si existen dudas sobre las medidas en que haya sido conservado; manipular de forma higiénica los alimentos, especialmente las conservas, si van a consumirse después de varias horas fuera del envase (Rego y Rodríguez, 2013; Field y Calderón, 2008).

Cuando la historia del paciente apoya un diagnóstico de intoxicación por histamina en pescado, el uso inmediato de antihistamínicos es el pilar del tratamiento (Feng, Teuber y Gershwin, 2016).

3.5. Marco regulatorio de la histamina en productos de la pesca

Según el reglamento bromatológico nacional (RBN) el pescado apto para el consumo es aquel que se encuentra fresco, libre de contaminación microbiana o química, así como de alteraciones anatómo-patológicas y de determinadas infestaciones parasitarias (Uruguay, 1994). El RBN prohíbe la comercialización de los pescados y sus derivados que presenten un contenido de histamina superior a 100 mg/kg en músculo (Uruguay, 1994).

En los países miembros del Mercado Común del Sur (Mercosur) fue adoptado el límite de 100 mg/kg para las especies pertenecientes a la familia *Scombridae*, *Scomberesocidae*, *Clupeidae* y *Pomotocidae* (Mercosur, 1994); el mismo límite fue oficializado para el mercado interno en Brasil, por la norma N° 185 del “Ministerio da Agricultura e do Abastecimento” (Brasil, 1997).

Para asegurar la inocuidad, el Reglamento 2073/2005 de la Comisión Europea, establece como niveles máximos para las especies de pescados ricos en histidina un plan de muestreo de $n = 9$, $c = 2$ y límites $m = 100$ mg/kg y $M = 200$ mg/kg (Unión Europea, 2005).

Las pautas señaladas en Estados Unidos por la FDA fijan una concentración máxima de histamina, considerando que no se distribuye uniformemente en el pescado, de 50 mg/kg (FDA, 2021).

3.6. Determinación de histamina.

3.6.1. Técnicas para detección y cuantificación de histamina

Hasta el momento, se han desarrollado diversos métodos para la determinación y cuantificación de la histamina en peces (Pons, 2005; FAO/WHO, 2013). Existen técnicas fluorimétricas, espectrofluorométricas, ensayo de inmunoabsorción ligados a enzimas (ELISA), prueba de enzimas colorimétricas y cromatografía (Pons, 2005; FAO/WHO, 2013). Cada uno de estos ensayos tiene fortalezas y limitaciones, variando en términos de costos, la experiencia del operador, el tiempo para obtener el resultado, su portabilidad, entre otros (FAO/WHO, 2013).

Actualmente el método más aplicado en el análisis de las aminas biógenas son los de cromatografía fina de alta eficiencia (HPLC), debido a su mayor precisión, exactitud y especificidad que las anteriores (FAO/ WHO, 2013). La técnica cromatográfica de capa fina es una técnica semicuantitativa utilizada principalmente como *screening* (FAO/ WHO, 2013; Neogen, 2013).

En la Tabla 1 se comparan las siguientes técnicas según el tiempo y equipos necesario para una prueba, sensibilidad o límite de cuantificación, rangos y las principales ventajas que poseen (FAO/ WHO, 2013).

Tabla 1. Comparación de los métodos de ensayo más utilizados para determinación de los niveles de histamina. Modificado de FAO/ WHO, 2013

	Método fluorométrico	Cromatografía	Método espectrofluorométrico	ELISA	Método colorimétrico
Tiempo necesario para una prueba	1-2 h	1-2 h	1 h	1 h	1 h
Equipos	fluorómetro	HPLC	Espectro fluorómetro	Espectro fluorómetro	Espectro fluorómetro
Límite de cuantificación	1-5 mg/kg	1,5- 5 mg/kg	1.5 µg/kg	2-5 mg/kg	20 mg/kg
Gama	1-150 mg/ kg	5-2 500 mg/ kg	1.5 µg/kg -100 mg/kg	0-500 mg/kg	0.8-300 mg/kg
Ventajas	Robusto repetible exactitud preciso	Cuantificación de todas las aminas biógenas, exactitud y precisión	Exactitud precisión buena recuperación, no es caro	Fácil (kit), rápido, equipo bajo costos y posibilidad de múltiples pruebas simultáneamente	Fácil (kit), rápido, equipo bajo costos, y posibilidad de múltiples pruebas simultáneamente. Sencillo calibración y posibilidad de evaluación semicuantitativa por visual colorimetría

3.6.2. Análisis semi- cuantitativo de histamina: kit comercial Reveal® para Histamina

Reveal® para Histamina es un kit comercial el cual está indicado para el análisis semi cuantitativo de histamina en peces (Figura 3) (Neogen, 2013; FAO/ WHO, 2013). Dicho kit posee una sensibilidad de 50 mg/kg y su tiempo de respuesta es de 5 minutos (Neogen, 2013). Es un ensayo de flujo lateral de un solo paso basado en un formato inmunoanalítico competitivo (Neogen, 2013; FAO/ WHO, 2013).

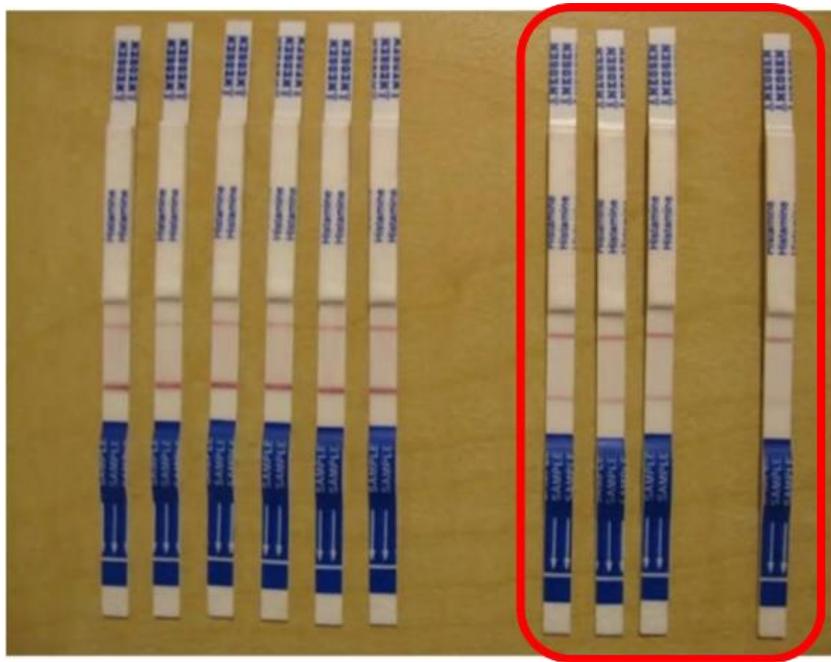


Figura 3. Ejemplo del uso de tiras reactivas del kit comercial Reveal® para Histamina. En el recuadro en rojo se muestran los resultados positivos a histamina y hacia la izquierda se muestran los resultados negativos a histamina. Tomado de Hungerford y Wu, 2012

3.7. Bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT) y Trimetilamina (TMA)

Luego de haber comenzado los procesos de deterioro se produce un aumento de la actividad bacteriana, cuyas enzimas difunden en el músculo produciendo la reducción de Óxido de Trimetilamina (OTMA) a aminas más simples como Trimetilamina (TMA), Dimetilamina (DMA), Monometilamina y amoníaco (NH₃) (Dragonetti, 2008). Al conjunto de estas se les conoce con el nombre de Bases Nitrogenadas Volátiles Totales (BNVT) (Dragonetti, 2008).

En peces marinos la dosificación de las BNVT es un método útil para la evaluación de la frescura (Dragonetti, 2008). Además, se puede utilizar la medición de TMA como índice de deterioro, ya que podemos concluir que a mayor volumen de TMA mayor actividad bacteriana (Dragonetti, 2008). La medición de TMA no brinda información acerca de los primeros cambios en el grado de frescura; pero sí acerca de los cambios posteriores o del grado de deterioro (Dragonetti, 2008; Huss, 1998).

Para la determinación de las BNVT utilizamos la técnica de Microdifusión de Conway, pero existen otras como, por ejemplo; Destilación Directa, Destilación por arrastre de vapor o también denominado “Antonacopoulos” (Dragonetti, 2008).

El método de microdifusión de Conway es preciso nos permite tanto la dosificación de BNVT, como de TMA (Figura 4) (Dragonetti, Galii y Friss, 2013; Serena, Pacheco y García, 2011). El objetivo de esta técnica es medir la cantidad de nitrógeno de BNVT presentes en la muestra (Dragonetti et al., 2013; Serena et al., 2011). Se basa en el desprendimiento de BNVT en medio alcalino y su absorción en ácido bórico para su posterior valorización mediante titulación ante un indicador de color (Dragonetti et al., 2013; Serena et al., 2011).



Figura 4. Placas de microdifusión de Conway utilizadas para la determinación de bases nitrogenadas volátiles totales y trimetilamina. Gérez y Paiva, 2022

3.8. Evaluación subjetiva de la frescura

Las técnicas de evaluación sensorial son las más utilizadas para evaluar el grado de frescura o descomposición del pescado (FAO/WHO, 2003). La evaluación sensorial es una disciplina científica, que utiliza los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y audición, para medir, analizar e interpretar reacciones características del alimento (Figura 5) (Huss, 1998).

El método sensorial es una herramienta rápida, exacta y relativamente sencilla para la evaluación de la frescura (Pinnacchio, 2011). Además, puede ser aplicado en variadas locaciones, y no se requieren equipos especializados para su empleo (Pinnacchio, 2011). Sin embargo, para que el análisis sensorial sea fiable, es necesario objetivar y normalizar los términos, para que las conclusiones sean cuantificables y reproducibles con la máxima precisión posible (Pinnacchio, 2011).

Durante los últimos 50 años han sido creadas una gran variedad de tablas como guías para la evaluación sensorial de los productos pesqueros (Silva y Soria, 2016). Si bien existen grandes diferencias entre ellas, los atributos que se tienen en cuenta para la evaluación no difieren (Silva y Soria, 2016). Dentro de estos encontramos los siguientes: apariencia general, color, olor, textura y elasticidad (Silva y Soria, 2016).



Figura 5. Evaluación subjetiva de la frescura. Gérez y Paiva, 2022

3.8.1. Apariencia general

Es el atributo que nos da una valoración inicial global del alimento (Pons, 2005; Dragonetti, 2008). Frecuentemente es el que determina su aceptación o el rechazo (Pons, 2005; Dragonetti, 2008).

En el caso de un lote de pescado, lo que se evalúa es la partida general; la disposición en las cajas, volumen de hielo y la presencia o ausencia de suciedad que puedan traer consigo (Pons, 2005; Dragonetti, 2008).

Al momento de evaluar un ejemplar se debe comprobar la existencia o no de *rigor mortis*; para lo cual se debe sostener al ejemplar por la cabeza verificando si se mantiene o no rígido, si por lo contrario se encuentra flácido, nos indica la resolución del rigor mortis o que aún no entro en él (Pons, 2005; Dragonetti, 2008). Para diferenciar debemos concurrir a los datos del tiempo transcurrido desde su captura y analizar la apariencia, se evalúan a la vez otras propiedades más concretas como son el color, la forma, el tamaño, el brillo, etc. (Pons, 2005; Dragonetti, 2008)

3.8.1.1. Color

Este parámetro es característico para cada especie, pero cambia a medida que avanza la putrefacción; pasando a tonalidades menos intensas, más apagadas. (Friss, Dragonetti, Elichalt y Russo, 2011).

La piel con el deterioro va perdiendo gradualmente su aspecto brillante e iridiscente (Yeannes, 2001). El peritoneo se vuelve opaco, y va perdiendo su capacidad de adherencia a la pared interna de la cavidad abdominal (Yeannes, 2001). Existe una decoloración de las branquias que de un color rojo sangre brillante, van pasando por rojos más tenues, rosas, llegando al amarillo o grisáceo al final del deterioro (Yeannes, 2001).

3.8.1.2. Olor

Es la percepción por medio de la nariz de sustancias volátiles liberadas por los alimentos (Pons, 2005). La percepción de un olor no es constante, si no que tienden a disminuir con rapidez (Pons, 2005). El olor es el único parámetro de la inspección sensorial que no podemos dejar de apreciar, aunque queramos (Friss et al., 2011).

Es conocida la variación del olor en los peces marinos, la gama va desde olor a “mar” en ejemplares muy frescos a fuertemente amoniacal en pescados podridos (Friss et al., 2011). Según el grupo de compuestos que predominen es el olor que podremos detectar, la relación entre estos se describe en la Tabla 2 (Friss et al., 2011).

Tabla 2. *Compuestos responsables de los diferentes olores que podemos encontrar en el pescado. Adaptado de Dragonetti, 2008*

Olor	Compuestos responsables
Fresco “a mar”	Oxido de Tri Metil Amina (OTMA)
Neutro	Equilibrio OTMA- TMA
Pescado	Tri Metil Amina (TMA)
Podrido	Amoniaco (NH ₃)

Nota: El olor fresco “a mar” lo proporciona el OTMA, luego este comienza a descender a causa del proceso de deterioro por aumento de la actividad bacteriana. El olor neutro se da por un equilibrio entre OTMA y aminas más simples como TMA, el olor a pescado lo proporciona TMA y el olor a podrido se da por NH₃.

3.8.1.3. Textura y elasticidad

La textura es la propiedad sensorial de los alimentos detectada por los sentidos del tacto, la vista y el oído y que se manifiesta cuando un alimento sufre una deformación (Pons, 2005). En relación con la textura, el tacto nos dará información sobre la dureza, la viscosidad o la consistencia del alimento (Pons, 2005). La vista nos proporcionará datos referentes al grado de rugosidad o resequeadad presente (Pons, 2005). El oído nos ofrecerá información sobre el crujido (Pons, 2005).

Para evaluarla se realiza un corte a la altura de la cola, así de esta manera se puede ejercer una presión uniforme sobre los haces musculares seccionados y observar el grado de protrusión de los miótomos (Dragonetti, 2008). Otra forma de evaluar la textura es realizar un corte a la altura de los músculos laterales paralelo a la columna vertebral comprobando el grado de desprendimiento muscular con respecto a la columna vertebral (Dragonetti, 2008).

La elasticidad se evalúa ejerciendo presión moderada sobre los músculos dorso laterales, valorando su capacidad de respuesta (Dragonetti, 2008). Un músculo en buenas condiciones se recupera rápidamente (Dragonetti, 2008).

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la capacidad histaminogénica de la Lacha.

4.2. OBJETIVOS PARTICULARES:

- Determinar el tiempo de almacenamiento en diferentes rangos de temperatura para mantener los niveles de histamina dentro de los límites requeridos por las normas.
- Relacionar los niveles de histamina con el grado de frescura.
- Relacionar los niveles de histamina en diferentes condiciones de almacenamiento.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización del proyecto

Los ensayos se llevaron a cabo en la planta piloto y laboratorio de la Unidad de Ciencia y Tecnología de los Productos Pesqueros de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República (UdelaR), ubicada en ruta 8, kilómetro 18, Montevideo, Uruguay. El establecimiento cuenta con el equipamiento adecuado para la realización del ensayo.

5.2. Metodología y flujograma de los ensayos

Se recibieron ejemplares de Lacha enteras refrigeradas en conservadoras isotérmicas con hielo. Los mismos fueron capturados por la flota artesanal y donados por la empresa pesquera local. Ingresaron dos partidas de pescado, la primera el 30 de abril del 2022, la segunda partida correspondió al 17 de mayo del 2022.

El estudio se dividió en tres ensayos, a los cuales los denominamos serie 1, 2 y 3. La primera partida de pescado se utilizó en la serie 1 la cual se almacenó en cámara frigorífica a una temperatura entre 0-2°C, mientras que la segunda partida se utilizó en la serie 2 y 3, manteniéndose la serie 2 a temperatura entre 6-8°C en cámara frigorífica y la serie 3 a temperatura ambiente entre 13-20°C. La temperatura de las cámaras frigoríficas se registró mediante el uso de datalogger TagTemp. En el caso de los ejemplares acondicionados a temperatura ambiente se colocaron en una bandeja de acero inoxidable, tapadas con film alimentario de polietileno, y se midió la temperatura con termómetro digital.

El procedimiento utilizado fue el mismo para las tres series, con leves modificaciones según el caso, éstas se encuentran detalladas en la Figura 6. Una vez recibidos los ejemplares en el laboratorio, para las tres series se procedió a realizar la evaluación sensorial y posteriormente éstas fueron fileteadas. A continuación, se realizó la determinación de bases nitrogenadas volátiles totales (BNVT), trimetilamina (TMA) y nitrógeno de trimetilamina (NTMA) mediante el método de microdifusión de Conway, y detección de histamina a través del kit comercial Reveal® para Histamina. Cada 48hs a partir del día de ingreso se repitió el mismo procedimiento hasta que alguno de los métodos de evaluación lo determinara no apto para consumo humano. En el caso de la lacha a temperatura ambiente entre 13-20°C, la determinación de BNVT, TMA y NTMA se realizó solo a tiempo inicial y final.

Para las 3 series se definió como "Día 1" al día de recepción de la lacha al laboratorio.

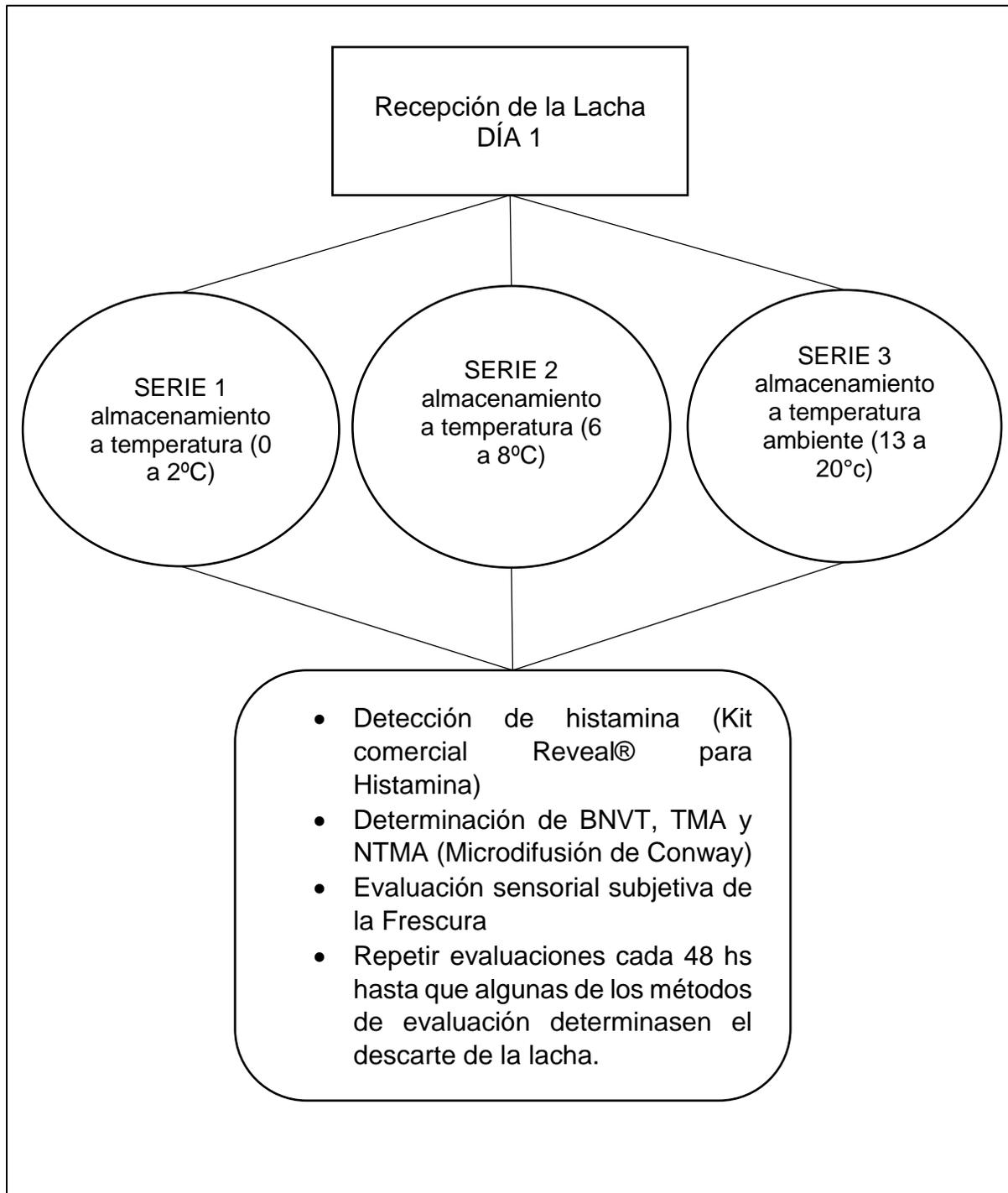


Figura 6. Diagrama de actividades realizadas. Gérez y Paiva, 2022

5.3.1 Detección de Histamina

Para la detección de histamina en músculo se utilizó KIT comercial Reveal® para Histamine, que consiste en una técnica semicuantitativa de flujo lateral basado en un formato inmunoanalítico competitivo (Neogen, 2013; FAO/ WHO, 2013). Posee una sensibilidad de 50 mg/kg y está indicada como prueba *screening* (Neogen, 2013). El resultado es considerado como positivo al detectar histamina en músculo en niveles ≥ 50 mg/kg o negativo en el caso de niveles < 50 mg/kg (Neogen, 2013). La técnica se realizó siguiendo los pasos indicados por el fabricante (Neogen, 2013). Las muestras positivas al KIT fueron remitidas al laboratorio para la cuantificación de Histamina a través del método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) adaptado por Malle, Valle y Bouquelet en 1996 (Malle et al., 1996).

5.3.2 Determinación de BNVT, TMA y NTMA por método de Microdifusión de Conway

Las BNVT, TMA y NTMA se determinaron a través de la técnica de Microdifusión de Conway, modificada según Bertullo en 1970. Es un método objetivo para la evaluación de la frescura del pescado, que consiste en la determinación de estas sustancias en el músculo. Los valores de referencia utilizados según la normativa internacional (Mercosur, 1994) se establecieron como aceptable para un nivel igual o menor a 30mg/100gr de BNVT en músculo. Para TMA y NTMA el límite entre fresco y alterado es de 40mg/100gr y 10mg/100gr de músculo respectivamente.

5.3.3 Evaluación sensorial

Se utilizó un sistema de puntuación en demérito, con una escala del 3 (pescado muy fresco) al 0 (pescado no apto, por lo tanto, se lo rechaza). Las características sensoriales evaluadas fueron: apariencia general, olor y textura. Cada día de evaluación se asignó un puntaje a cada atributo. La suma de todos los atributos determina el puntaje total de frescura del ejemplar, siendo 9 el máximo y 0 el mínimo. El puntaje rechazo se estableció cuando la sumatoria total de atributos fuese menor o igual a 3, o que el puntaje individual de algunas de las características observadas fuese de 0.

5.3 Análisis y registro de datos

El análisis se definió en base a la comparación entre los métodos de determinación de histamina y frescura a lo largo de los días en cada serie. Los resultados obtenidos en la tres series fueron evaluados a través de un análisis de inspección visual mediante tablas y gráficas. Para el registro de los datos se elaboraron planillas utilizando el programa de Microsoft Office Word. La mismas fueron elaboradas en software estadístico Microsoft Office Excel.

6. RESULTADOS

6.1 Lacha almacenada a temperatura entre 0-2°C (serie 1).

La histamina resultó negativa desde el día 1 hasta el día 15 del ensayo. Al día 15 los valores de BNVT fueron de 30,72 mg/100gr músculo de pescado superando el límite de frescura (30mg/100gr). La evaluación sensorial ese mismo día superó el rango mínimo de frescura. Los valores de TMA y NTMA se mantuvieron dentro de los límites permitidos según la reglamentación. En la siguiente tabla se representan los resultados obtenidos de histamina, BNVT, TMA, NTMA y evaluación sensorial de la serie almacenada a temperatura entre 0-2°C. En la figura 7 se representan los resultados de BNVT y evaluación sensorial.

Tabla 3. Resumen de los resultados de las evaluaciones sensoriales, de frescura, así como el resultado del test de histamina realizadas sobre la serie almacenada a temperatura entre 0-2°C.

	BNVT (mg/100gr)	TMA (mg/100gr)	NTMA (mg/100gr)	Evaluación Sensorial (Escala en demérito)	Histamina (≥50mg/kg)
Día 1	14,9	5,05	2,13	9	Negativo
Día 3	16,23	25,76	6,12	8	Negativo
Día 5	21,54	34,71	7,05	8	Negativo
Día 7	18,62	32,56	7,71	8	Negativo
Día 9	24,73	39,3	9,31	6	Negativo
Día 11	19,68	20,77	4,92	5	Negativo
Día 13	25,93	34,81	8,25	4	Negativo
Día 15	30,72	35,93	8,51	2	Negativo

Nota: BNVT= Bases nitrogenadas volátiles totales; TMA = Trimetilamina; NTMA = Nitrógeno de trimetilamina

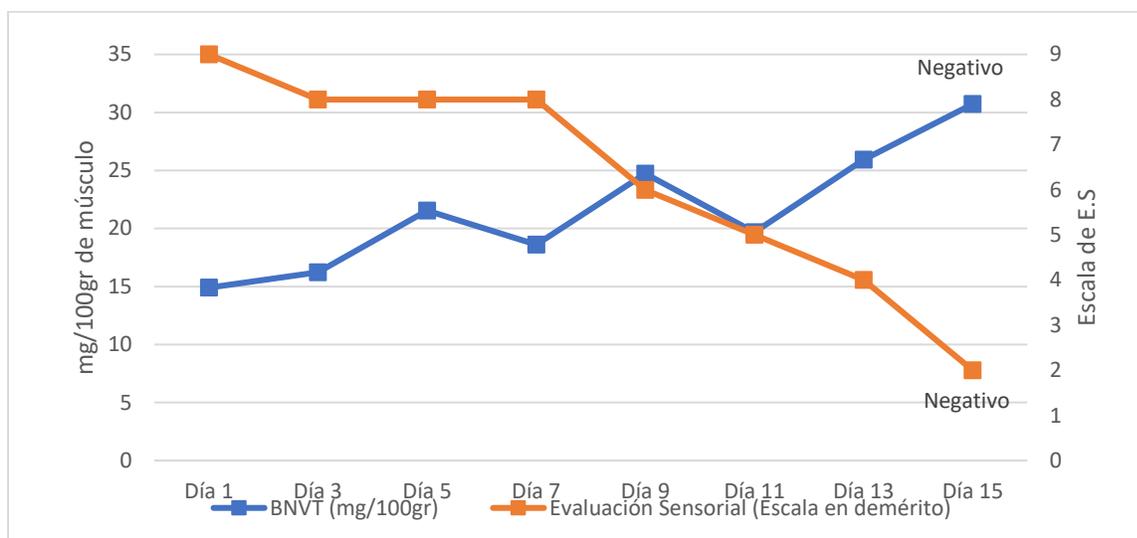


Figura 7 Comparación entre producción de BNVT y evaluación de la frescura de la serie almacenada a temperatura entre 0-2°C. Considerando el resultado final de histamina.

Nota: BNVT= Bases nitrogenadas volátiles totales; Negativo = nivel <50mg/kg de histamina en musculo de pescado; E.S. = evaluación sensorial

6.2 Lacha almacenada a temperatura entre 6-8°C (serie 2).

Los resultados adversos de BNVT y de evaluación sensorial en la serie almacenada a temperatura entre 6-8°C, se presentaron más rápidamente en tiempo (Tabla 4). Siendo descartados al día 7 por evaluación sensorial y BNVT con resultado 36,84 mg/100gr músculo de pescado superando el límite de frescura (30mg/100gr). Se repitió las evaluaciones 48h. después (día 9) del descarte resultando positivo a la prueba de histamina (Figura 8). El informe final del laboratorio por el método HPLC determinó una concentración de 39,15 mg/kg de histamina en músculo de la muestra positiva del día 9.

Tabla 4. Resumen de los resultados de las evaluaciones sensoriales, de frescura, así como el resultado del test de histamina realizadas sobre la serie a temperatura 6-8°C.

	BNVT (mg/100gr)	TMA (mg/100gr)	NTMA (mg/100gr)	Evaluación Sensorial (Escala en demérito)	Histamina (≥50mg/kg)
Día 1	14,76	5,05	2,13	9	Negativo
Día 3	15,07	13,48	3,2	8	Negativo
Día 5	28,59	24,7	5,85	5	Negativo
Día 7	36,84	40,42	9,57	1	Negativo
Día 9	30,59	48,95	11,57	0	Positivo

Nota: BNVT= Bases nitrogenadas volátiles totales; TMA = Trimetilamina; NTMA = Nitrógeno de trimetilamina

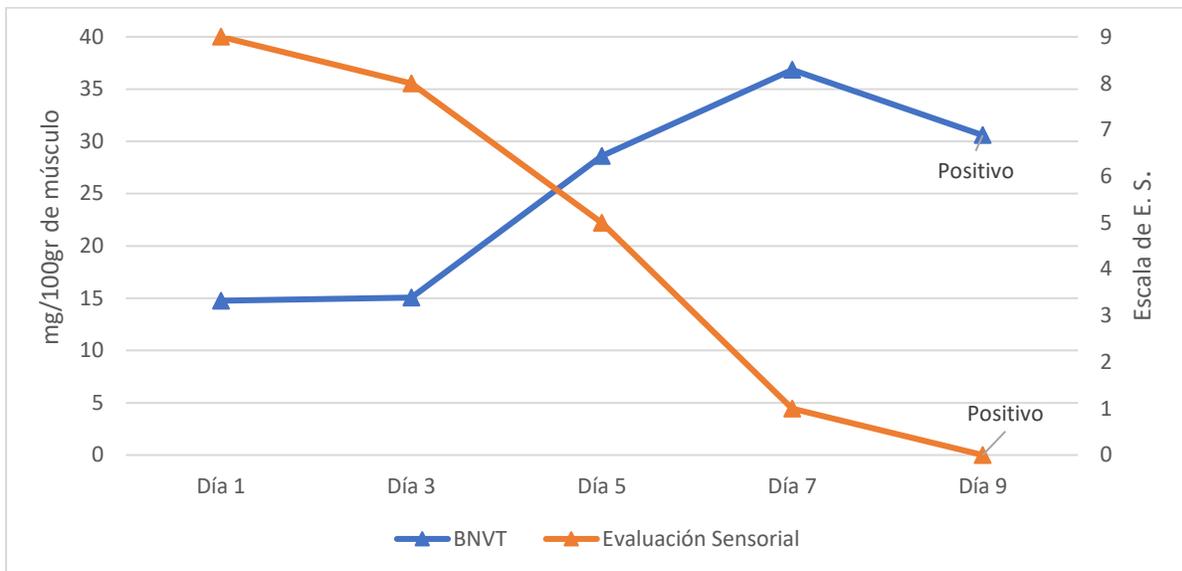


Figura 8. Comparación entre producción de BNVT y evaluación de la frescura de la Serie sometida a temperatura 6-8°C. Considerando el resultado final de histamina.

Nota: BNVT= Bases nitrogenadas volátiles totales; Positivo = nivel ≥ 50 mg/kg de histamina en músculo de pescado; E.S. = evaluación sensorial

6.3 Lacha almacenada a temperatura ambiente entre 13-20°C (serie 3).

La serie a temperatura ambiente la cual se sometió a temperaturas de almacenamiento inadecuadas (entre 13 y 20°C), se descartó al día 3 por evaluación sensorial (Tabla 5). Se procedió a realizar una evaluación de los parámetros 48h (día 5) después del descarte resultando positivo a la prueba de histamina, determinando el descarte definitivo (Figura 9). Los resultados de las muestras positivas enviadas al laboratorio determinaron una concentración de 101,89 mg/kg de histamina en músculo.

Tabla 5. Resumen de los resultados de las evaluaciones sensoriales, de frescura, así como el resultado del test de histamina realizadas sobre la lacha a temperatura ambiente entre 13-20°C.

	BNVT (mg/100gr)	TMA (mg/100gr)	NTMA (mg/100gr)	Evaluación Sensorial (Escala en demérito)	Histamina (≥ 50 mg/kg)
Día 1	14,76	5,05	2,13	9	Negativo
Día 3				2	Negativo
Día 5	46,68	72,43	17,16	0	Positivo

Nota: BNVT= Bases nitrogenadas volátiles totales; TMA = Trimetilamina; NTMA = Nitrógeno de trimetilamina

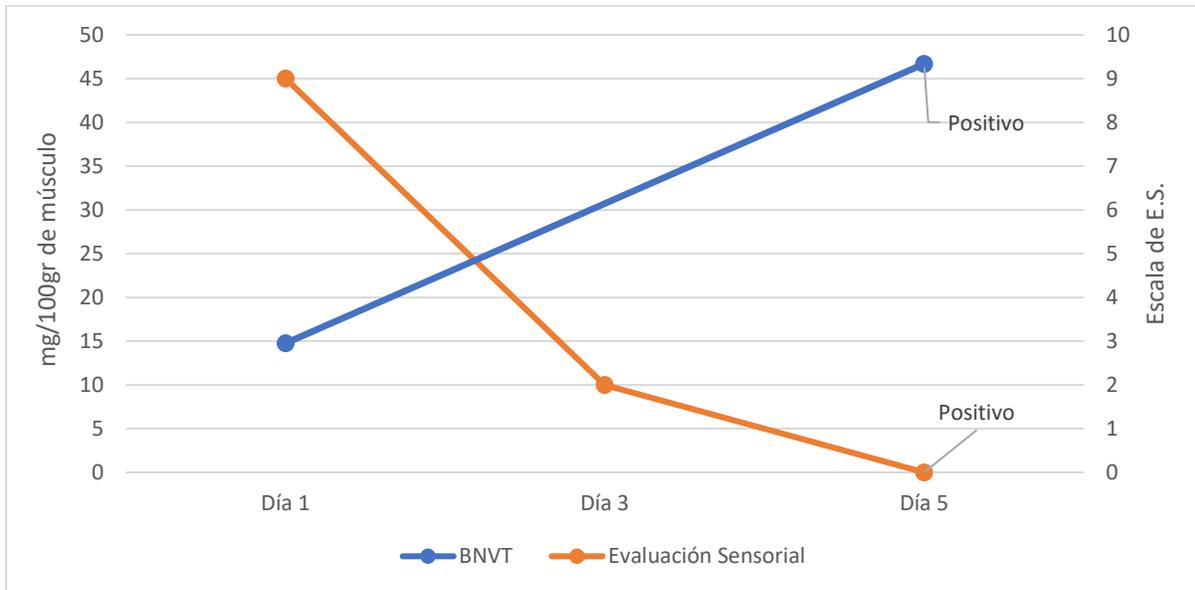


Figura 9. Comparación entre producción de BNVT y evaluación de la frescura de la Lacha a temperatura ambiente entre 13-20°C. Considerando el resultado final de histamina.

Nota: BNVT= Bases nitrogenadas volátiles totales; Positivo = nivel ≥ 50 mg/kg de histamina en músculo de pescado; E.S. = evaluación sensorial

6.4. Comportamiento de las concentraciones de BNVT en las 3 series, con relación al tiempo considerando el resultado final de histamina.

En la figura 10 podemos observar la relación de BNVT e histamina de las tres series obteniendo como resultado que cuanto más alta es la temperatura más rápido se presentan valores de BNVT altos, pudiendo llegar muchas veces a superar el límite permitido (30mg/100gr). Además a medida que pasan los días por más que respetemos la temperatura nos encontramos muy cerca e incluso superamos el límite permitido. En el caso de la serie a temperatura entre 0-2°C, en el día 13 estamos muy próximo a superar el límite permitido, y en el día 15 lo superamos. Con relación a la histamina sucede algo similar si respetamos la temperatura no obtenemos un test positivo, pero en la serie almacenada a temperatura entre 6-8°C y la serie sometida a temperatura ambiente entre 13-20°C, obtenemos resultados positivos.

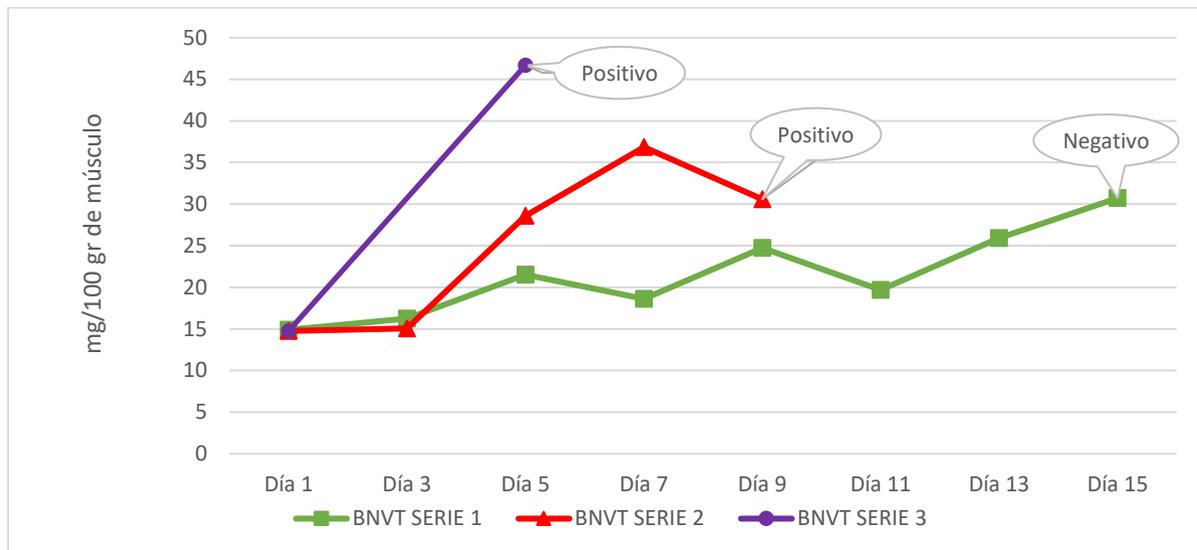


Figura 10: Comportamiento de las concentraciones de BNVT en las 3 series, con relación al tiempo considerando el resultado final de histamina.

Nota: BNVT= Bases nitrogenadas volátiles totales; Positivo = nivel ≥ 50 mg/kg de histamina en musculo de pescado; Negativo = nivel < 50 mg/kg de histamina en musculo de pescado; Serie 1 = almacenada a temperatura entre 0-2°C; Serie 2 = almacenada a temperatura entre 6-8°C; Serie 3 = almacenada a temperatura ambiente

6.5. Comportamiento de la evaluación sensorial de las 3 series con relación al tiempo considerando el resultado final de histamina

En la figura 11 muestra la conducta de la evaluación sensorial en las tres series, y el resultado de final de histamina. En la serie a temperatura 0-2°C que descartamos el día 15 por evaluación sensorial sin obtener resultado positivo de histamina. En la serie almacenada a temperatura entre 6-8°C el día 7 se descartó por evaluación sensorial, y al día 9 por resultado positivo a histamina. La serie a temperatura ambiente entre 13-20°C al día 3 se descartó por evaluación sensorial y al día 5 por resultado positivo a histamina.

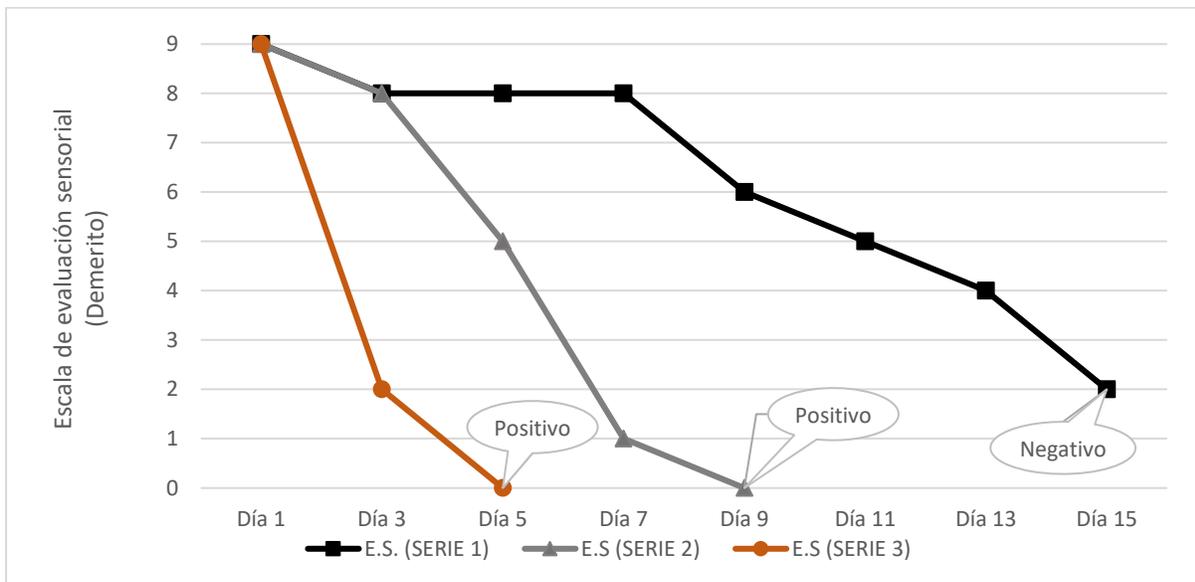


Figura 11: Comportamiento de la evaluación sensorial de las 3 series con relación al tiempo considerando el resultado final de histamina.

Nota: E.S.= Evaluación sensorial; Positivo = nivel ≥ 50 mg/kg de histamina en musculo de pescado; Negativo = nivel <50 mg/kg de histamina en musculo de pescado.

7. DISCUSIÓN

Los valores de histamina analizados por el kit Reveal® para Histamina resultaron negativos de inicio a fin en la serie 1 (almacenadas entre 0-2°C). En la serie 2 (almacenadas entre 6-8°C) y serie 3 (temperatura ambiente entre 13-20°C) se presentaron resultados positivos 48h después de ser descartada la Lacha por evaluación sensorial. Los resultados de las muestras positivas enviadas al laboratorio para su cuantificación por la técnica HPLC de la Serie 2 y 3, fueron de 39,15 mg/kg y 101,89 mg/kg de histamina respectivamente.

Pennisi (2013) obtuvo resultados negativos para 50, 100 y 200 mg/Kg de histamina en desmenuzado congelado de Lacha pese a los altos valores de BNVT encontrados, que indicarían que sus muestras estuvieron expuestas a altas temperaturas. Estos resultados se asemejan a los encontrados en la serie 1 y serie 2, en el cual los valores de BNVT superaron el límite permitido por la reglamentación (30 mg/100g), sin la producción de concentraciones altas de histamina. A su vez, Pennisi (2013) destaca que conservando el pescado a temperatura por debajo de los 8°C disminuye el desarrollo de microorganismos descarboxiladores de histidina.

Delgado Bottini, Valls Puig y Tomé Boschian (2000), evaluaron la formación de aminas biógenas y recuento microbiológico de bacterias formadoras de histamina en Sardinella (*Sardinella aurita*) durante su almacenamiento a una temperatura de 4°C. Las concentraciones de histamina oscilaron en un amplio rango entre 2 mg/kg y de 87 mg/kg, mientras que en el análisis microbiológico encontraron bajo crecimiento bacteriano. Los resultados para histamina obtenidos por Delgado Bottini et al (2000) coinciden con los de la Serie 1 y 2. Lira (2019) encontró niveles altos de histamina en Sardinella (*Sardinella brasiliensis*) fresca y congelada procedentes de un mercado de Porto Alegre. El género *Sardinella* pertenece a la familia de los *Clupeidos*, al igual que el género *Brevoortia*, al que pertenece la Lacha, de la que se cuenta con escasos estudios sobre su capacidad de formar histamina, por lo cual resulta adecuada su comparación en esta discusión.

En las lachas almacenadas a temperatura entre 6-8° C (serie 2) se registró un resultado positivo a histamina al día 9, que luego se cuantificó por el método HPLC dando valores de 39,15mg/Kg, por debajo del nivel de detección del kit (50 mg/kg). Algo similar ocurrió en el ensayo de Hungerford y Wu (2012) donde el kit comercial Reveal® para Histamina sobreestimó niveles de histamina en una muestra previamente analizada por el método de referencia AOAC (977.13). Estos autores, determinaron que no hubo interferencias de anserina, carnosina e histidina (péptidos relacionados a la matriz muscular del pescado) en la sensibilidad del kit. Ellos no descartan que compuestos presentes naturalmente en el pescado o los que se producen por la descomposición, comprometan la precisión de estas pruebas.

El género *Brevoortia* es identificada en la guía de Peligros y Control de Pescados y Productos Pesqueros de la FDA (2021) como una especie con riesgo de formar histamina. De este modo, se podría pensar que la lacha es una especie potencialmente peligrosa. Si bien su capacidad de formación de histamina fue confirmada en las 3 series, en todos los casos los niveles de riesgo significativo (iguales o mayores a 50 mg/kg) se detectaron en ejemplares descartados previamente por evaluación sensorial. Por consiguiente, el correcto mantenimiento de las condiciones de almacenamiento y la aplicación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) nos aseguran que la lacha no represente un peligro potencial respecto a la formación de histamina.

8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Altos niveles de histamina en lacha fueron detectados luego de que los ejemplares se encontraran ya con una descomposición avanzada. Esto permite inferir que la lacha no es una especie potencialmente peligrosa en relación a esta amina biógena, siempre y cuando se respetan las condiciones de refrigeración en el almacenamiento, inferiores a 4 °C (recomendación de la FDA).

El kit Reveal® detectó niveles significativos de histamina en las lachas conservadas a temperatura entre 6-8 ° C y en las almacenadas a temperatura ambiente entre 13-20°C, mientras que en aquellas conservadas a temperatura entre 0-2 ° C no fue detectada inclusive en un tiempo de almacenamiento extremadamente prolongado de 15 días. Esto se puede asociar a que la formación de histamina en Lachas almacenadas a bajas temperaturas es limitada, evidenciándose niveles significativos una vez que el deterioro es avanzado.

El kit Reveal® para Histamina es un buen método cualitativo rápido (*screening*) para su utilización en la industria pesquera a efectos del descarte o aceptación de un lote de pescado. Sin embargo, es conveniente apoyarse con pruebas más específicas que permitan corroborar la concentración de histamina.

Cabe destacar que del presente trabajo se puede concluir que la formación de histamina en la lacha, no sería un potencial problema para la salud y la industria, ya que antes de presentar concentraciones elevadas de histamina, ésta se pudre.

Del presente trabajo se puede concluir que en condiciones normales de aplicación de BPM y adecuadas condiciones de almacenamiento refrigerado, la probabilidad de presentar altos niveles de histamina en esta especie no es significativo.

9- ANEXOS

ANEXO I

Tabla 6. *Registro diario de temperatura, frescura, BNVT, TMT, NTMA y histamina*

	Temperatura	Frescura	BNVT	TMA	NTMA	Histamina
Día 1						
Día 3						
Día 5						
Día 7						
Día 9						
Día 11						
Día 13						
Día 15						

ANEXO II

Tabla 7. *Planilla de registro de evaluación sensorial*

DIA	APARIENCIA GENERAL	OLOR	TEXTURA	OBSERVACIONES
1				
3				
5				
7				
9				
11				
13				
15				

ANEXO III

Tabla 8. *Planilla de temperatura*

Timestamp	TagTemp

Tabla 9. *Planilla de temperatura mañana y tarde*

DIA	MAÑANA	TARDE

10. BIBLIOGRAFÍA

- Acha, E.M. (1999). *Estrategia reproductiva de la saraca, Brevoortia aurea (Spix y Agassiz, 1829) (Pisces: Clupeidae), en el estuario del Río de la Plata* (Tesis de doctorado). Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, Universidad de Mar del Plata.
- Adkins, Y., y Kelley, D. S. (2010). Mechanisms underlying the cardioprotective effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 21(9), 781–792.
- Ayçaguer, C., Amaro, J., Pin, O., y Mar del Plata, R. (1998). Osteología de peces de importancia comercial del Uruguay. Montevideo: *Instituto de Investigaciones Pesqueras Facultad de Veterinaria Universidad Mayor de la República Oriental del Uruguay*.
- Bertullo, E., y Pollak, A. (1998). *Aprovechamiento Tecnológico de recursos pesqueros subexplotados en Uruguay*. Montevideo: CONICYT.
- Brasil. (1997, Mayo 13). Portaria MAPA Nº 185: Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Inteiro e Eviscerado). Recuperado de <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/rtiq-pescado-e-seus-derivados>
- Cousseau, M.B., y Díaz de Astarloa, J.M. (1993). El género *Brevoortia* en la costa Atlántica sudamericana. *Frente Marítimo*, 14, 49-57.
- Delgado Bottini, A., Valls Puig, J., y Tomé Boschian, E. (2000). Evaluación de aminas biógenas, microbiológica y sensorial de sardina (*Sardinella aurita*) durante su almacenamiento en hielo. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, 10(6). Recuperado de <https://link.gale.com/apps/doc/A498802694/IFME?u=anon~c973cf9c&sid=googleScholar&xid=92083454>
- Delgado, R., Gutiérrez, C.J., y Hurtado, Á. (2003). Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) de origen marino en nueva Esparta: II. Características clínicas y epidemiológicas. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 34(2), 11-16. Recuperado de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772003000200003&lng=es&tlng=es
- Dirección Nacional de Recursos Acuáticos. (2019). *Boletín Estadístico Pesquero 2018*. Montevideo: MGAP-DINARA.
- Dragonetti Saucero, J.P. (2008) *Guía ilustrada para la evaluación de la frescura*. Montevideo: Facultad de Veterinaria.
- Dragonetti, J.P., Galli, C., Friss de kereki, C. (2013) *Guía didáctica Métodos de laboratorio para la evaluación de la frescura en los productos pesqueros*. Montevideo: Facultad de Veterinaria

- European Food Safety Authority. (2011). Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA Journal*, 9(10), 2393.
- European Food Safety Authority. (2015). Scientific and technical assistance on the evaluation of the temperature to be applied to pre-packed fishery products at retail level. *EFSA Journal*, 13(7),4162
- European Food Safety Authority. (2019). The European Union one health 2018 zoonoses report. *EFSA Journal*, 17(12), e05926.
- Evangelista, W. P., Silva, T. M., Guidi, L. R., Tette, P. A., Byrro, R. M., Santiago-Silva, P., ... Gloria, M. B. A. (2016). Quality assurance of histamine analysis in fresh and canned fish. *Food Chemistry*, 211, 100-106.
- Feng, C., Teuber, S., y Gershwin, M. E. (2016). Histamine (scombroid) fish poisoning: a comprehensive review. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 50(1), 64-69.
- Fernández García, M., y Álvarez González, M. Á. (2005). *Las aminas biógenas en los alimentos*. Recuperado de https://digital.csic.es/bitstream/10261/5771/1/IPLA_AGROCSIC_2.pdf
- Field-Cortázares, J., y Calderón-Campos, R. (2008). Escombroidosis, Intoxicación por Histamina. *Boletín Clínico Hospital Infantil del Estado de Sonora*, 25(2), 91-94.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations & World Health Organization. (2003). Código de prácticas para el pescado y productos pesqueros (CAC/RCP 52-2003). Recuperado de <https://www.yumpu.com/es/document/view/14361699/codigo-de-practicas-para-el-pescado-y-los-productos-pesqueros/64>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations & World Health Organization. (2013). *Public health risks of histamine and other biogenic amines from fish and fishery products*. Roma: FAO
- Food and Drug Administration. (2013). *Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance* (4ª ed.). Gainesville: IFAS.
- Food and Drug Administration. (2021). *Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance* (4ª ed.). Gainesville: IFAS.
- Friss de Kereki, C., Dragonetti, J.P., Elichalt, M., y Russo, M. (2011). Frescura, manipulación y aspectos nutricionales de los productos de la pesca artesanal en el Río Uruguay (Salto, Paysandú y Río Negro). En E. Krall, L. Piedrabuena, C. Friss, L. Chalar, C. Goncalvez y W. Rios, *Estudio de la Cadena de Comercialización de la Pesca Artesanal del Río Uruguay y Alternativas Productivas de Diversificación* (pp. 59-72). Montevideo: Universidad de la República.
- Froese, R., y Pauly, D. (2022). Fish Base. *Brevoortia aurea* (Spix & Agassiz, 1829). Recuperado de

<https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=275498> on 2022-07-25

- Giangiobbe, A., y Sánchez, F. (1993). Alimentación de la saraca (*Brevoortia aurea*). *Frente Marítimo*, 14, 71-80
- Gomes Manoel, R. V. (2008). *Determinação de histamina em peixes e crustáceos comercializados em Florianópolis utilizando a eletroforese capilar* (Tesis de grado). Departamento de Química, Centro de Ciencias Físicas e Matemáticas, Universidad Federal de Santa Catarina.
- González, M. C., Díaz, A. C., Moncayo, J. G., y Marín, J. A. (2020). Intoxicación escombroides secundaria al consumo de atún: presentación de un caso. *Biomédica*, 40(4), 594-598.
- Hernández Garcarena, I., Suarez Tamayo, S., García Baluja, R., Jordán Quintáns, A. M., Sánchez Azahares, Y., Cardona Gálvez, M. y Vivar Perez, A. (2020). Vigilancia de histamina en pescado en el período comprendido de 2015 – 2017. *Higiene y Sanidad Ambiental*, 20 (1),1835-1839
- Hungerford, J., y Wu, W. H. (2012). Comparison study of three rapid test kits for histamine in fish: BiooScientific MaxSignal enzymatic assay, Neogen Veratox ELISA, and the Neogen Reveal Histamine Screening test. *Food Control*, 25(2), 448-457.
- Huss, H. H. (1997). *Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros*. Roma: FAO. Recuperado de <https://www.fao.org/3/t1768s/T1768S00.htm>
- Huss, H.H. (1998). El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad. Roma: FAO. Recuperado de https://oa.upm.es/14340/2/Documentacion/2_Dimensionamiento/elpescadofrescos034843mbp.pdf
- Lijó, I. R., y Domínguez, M. R. (2013). ¿Escombroidosis? *Cadernos de atención primaria*, 19(3), 199-206.
- López- Sabater, E.I., Rodríguez- Jerez, J., Hernández- Herrero, M., y Mora-Ventura M. T. (1996). Incidence of histamine-forming bacteria and histamine content in scombroid fish species from retail markets in the Barcelona area. *International Journal of Food Microbiology*, 28(3), 411-418
- Maestre del Cura, R. (2012). *Mecanismos implicados en la acción antioxidante de polifenoles naturales en productos de la pesca y acuicultura* (Tesis de doctorado). Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Universidad de Santiago de Compostela.
- Malle P., Valle M., y Bouquelet S. (1996) Assay of biogenic amines involved in fish decomposition. *Journal of AOAC International*,79, 43-49.

- Mercado común del Sur. (1994). Resolución N° 40/94: Reglamento de identidad y calidad del pescado fresco. Recuperado de <http://www.sice.oas.org/Trade/MRCRSR/Resolutions/Res4094.asp>
- Morales-Nin, B., Fauquet, A., y López Cazorla, A. (1985). Morfología de las escamas de *Brevoortia aurea* (Pisces: Clupeidae). *Investigación Pesquera*, 49, 439 –450.
- Neogen Corporation. (2013). *Read instructions carefully before starting test Reveal® for Histamine*. Recuperado de https://www.neogen.com/globalassets/pim/assets/original/10017/16242c-reveal-histamine-screening-test_9501_kitinsert.pdf
- Norbis, W., Paesch, L., Verocai, J., y Villamaria, G. (1992). Cambios en la estructura de la población de Corvina (*Micropogonias furnieri*) capturada en la pesquería artesanal de Pajas Blancas (Montevideo, Uruguay). *Frente Marítimo*, 11, 37- 46.
- Pennisi, S.C. (2013). *Alternativas tecnológicas que permiten la elaboración de productos conformados ricos en Ácidos grasos poli- insaturados, a partir de una especie marina grasa sub- explotada (SARACA, Brevoortia aurea)* (Tesis de doctorado). Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, Universidad de la Plata.
- Pinnacchio Sacaladaferri, G. (2011). *Evaluación sensorial de la frescura en peces de importancia comercial del río Uruguay* (Tesis de grado). Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo.
- Pons Sánchez-Cascado, S. (2005) *Estudio de alternativas para la evaluación de la Frescura y la calidad del boquerón (Engraulis encrasicolus) y sus derivados* (Tesis de grado). Departamento de Nutrición y Bromatología, Facultad de Farmacia, Barcelona.
- Rego Lijó, I., y Rodríguez Domínguez, M. (2013). ¿Escombroidosis? *Cadernos de atención primaria*, 19(3), 199-206.
- Riscado Pombo, C., Maia Franco, R. y Teixeira Mársico, E. (2012). Caracterização do processamento tecnológico e validade comercial de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*) anchovadas. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, 19(1), 26-31.
- Rodríguez, C. (2016). *Ciclo gonadal y potencial reproductivo de la lacha (Brevoortia aurea) en la Laguna de Rocha* (Tesis de maestría). Facultad de Ciencias, UDELAR, Montevideo.
- Serena, A., Pacheco, R., y García Rodríguez, S. (2011). Investigación de parámetros físico-químicos y de tecnologías aplicadas a especies pelágicas pequeñas para su utilización con destino al consumo humano directo (Tesis de grado). Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo.
- Silva Ingold, D. G., y Soria Muniz, S. E. (2016). *Determinación y comparación de la vida útil de filetes de pescadilla (Cynoscion guatucupa) refrigerados con hielo en escamas y*

envasados al vacío refrigerados (Tesis de grado). Facultad de Veterinaria, UDELAR, Montevideo.

Sotodosos Carpintero, M., Iñigo Núñez, S., Mourelo Rodríguez, M. M., y Fernández Valentí, M. L. (2019). Predicción de la formación de histamina en pescados refrigerados ricos en histidina. *Revista Madrileña de Salud Pública*, 1(5), 1–7.

Souza, A. L. M. D., Calixto, F. A. A., Mesquita, E. D. F. M. D., Packness, M. D. P., y Azeredo, D. P. (2016). Histamina e rastreamento de pescado: revisão de literatura. *Arquivos do Instituto Biológico*, 82, 01-11.

Unión Europea. (2005, Noviembre 15). Reglamento (CE) nº 2073/2005: Relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. Recuperado de <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2005/2073/oj/spa>

Uruguay (1994, Julio 05). Decreto 315/994: Reglamento Bromatológico Nacional. Recuperado de <https://www.impo.com.uy/bases/decretos-reglamento/315-1994>

Valls, J. (2002). Histamina en atún y otros grandes pelágicos métodos para su cuantificación. En Taller Aprovechamiento e industrialización de atún y otros grandes pelágicos. ICTA-UCV. IUT-Cumaná.

Visciano, P., Schirone, M., Tofalo, R., y Suzzi, G. (2014). Histamine poisoning and control measures in fish and fishery products. *Frontiers in Microbiology*, 5, 500.

Yeannes, M.I. (2001). La Evaluación Sensorial y los Productos Pesqueros. *Infopesca Internacional*, 12, 32-34.