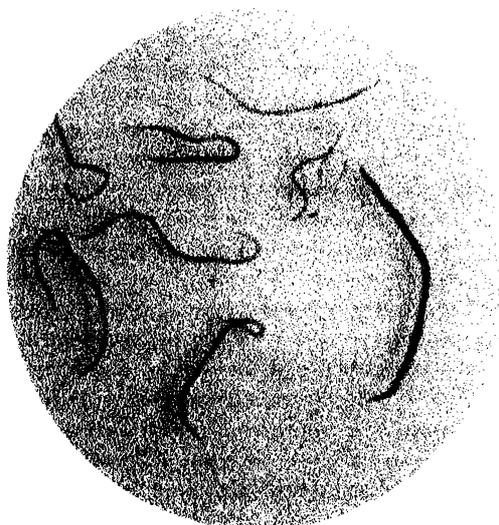


**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**DETERMINACIÓN DE LARVAS DE ANISÁKIDOS EN *Cynoscion guatucupa*  
(PESCADILLA) e *Illex argentinus* (CALAMAR)**



**Gabriela Virginia DELGADO FAUSTINO**



**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2008**

118 TG  
Determinación d  
Delgado Faustino, Gabriela Virginia



FV/28112

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**DETERMINACIÓN DE LARVAS DE ANISÁKIDOS EN *Cynoscion guatucupa*  
(PESCADILLA) e *Illex argentinus* (CALAMAR)**

**por**

**Gabriela Virginia DELGADO FAUSTINO**

**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 Estudio de Caso**

**Montevideo  
Uruguay  
2008**

# PÁGINA DE APROBACIÓN

TRABAJO FINAL aprobado por:

Presidente de Mesa:

-----  
Nombre completo y firma

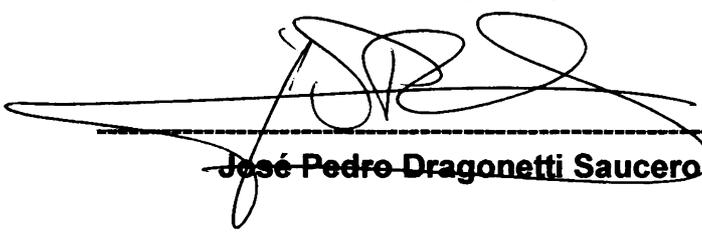
Segundo Miembro Tutor:

  
-----  
Cristina Friss de Kereki

Tercer Miembro:

-----  
Nombre completo y firma

Cotutor:

  
-----  
José Pedro Dragonetti Saucero

Fecha:

-----  
19/12/08

Autores:

Gabriela DELGADO

  
-----  
Firma

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco sinceramente a mi tutora de tesis la Dra. Cristina Friss de kereki y al cotutor Dr. José Pedro Dragonetti, por su permanente apoyo y colaboración en la realización de este trabajo.

Al Instituto de Investigaciones Pesqueras “Dr. Víctor H. Bertullo” de la Facultad de Veterinaria por su colaboración proporcionando lo necesario para realizar esta tesis, y a todo su personal docente y no docente que me han ayudado y apoyado en todo este tiempo.

A la Dra. Cristina Ayçaguer, por permitirme trabajar en el Área de Ciencias del Mar del Instituto de Investigaciones Pesqueras y utilizar el microscopio óptico y el microscopio estereoscópico.

Al Dr. Daniel Carnevia del Área de Acuicultura del Instituto de Investigaciones Pesqueras por facilitarme el microscopio con cámara para obtener los registros fotográficos.

Agradecimientos a los Dres. Perla Cabrera y Oscar Castro de la Cátedra de Parasitología de la Facultad de Veterinaria por brindar su tiempo y consejo en la elaboración del trabajo.

Al Dr. Ernesto Varela por sus consejos académicos al momento de realizar los gráficos y tablas.

A mi familia y amigos que me han apoyado y me han alentado para llevar a la práctica esta tesis.

Y a todos los que de alguna forma estuvieron conmigo.

Gracias

## **TABLA DE CONTENIDO**

|                                                                                                                                                    | <b>Página</b> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| PÁGINA DE APROBACIÓN.....                                                                                                                          | II            |
| AGRADECIMIENTOS.....                                                                                                                               | III           |
| LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....                                                                                                                    | IV            |
| 1. RESUMEN.....                                                                                                                                    | 1             |
| 2. SUMMARY.....                                                                                                                                    | 2             |
| 3. INTRODUCCIÓN.....                                                                                                                               | 3             |
| 4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....                                                                                                                     | 4             |
| 4.1. Definición.....                                                                                                                               | 4             |
| 4.2. Etiología y Taxonomía.....                                                                                                                    | 4             |
| 4.3. Generalidades de Nematodos.....                                                                                                               | 4             |
| 4.4. Características Morfológicas de los Géneros<br><i>Anisakis</i> , <i>Pseudoterranova</i> , <i>Contracaecum</i> e <i>Hysterothylacium</i> ..... | 5             |
| 4.4.1. Características morfológicas de la larva III del género<br><i>Anisakis</i> .....                                                            | 6             |
| 4.4.2. Características morfológicas de la larva III del género<br><i>Pseudoterranova</i> .....                                                     | 7             |
| 4.4.3. Características morfológicas de la larva III del género<br><i>Contracaecum</i> .....                                                        | 8             |
| 4.4.4. Características morfológicas de la larva III del género<br><i>Hysterothylacium</i> .....                                                    | 9             |
| 4.5. Distribución geográfica.....                                                                                                                  | 9             |
| 4.6. Ciclo biológico.....                                                                                                                          | 10            |
| 4.7. Localización de las larvas en peces hospederos.....                                                                                           | 11            |
| 4.8. Métodos de detección de larvas de anisákidos en el pescado.....                                                                               | 12            |
| 4.8.1. Examen visual simple (macroscópico).....                                                                                                    | 12            |
| 4.8.2. Examen por transiluminación " <i>Candling</i> ".....                                                                                        | 12            |

|                                                                                               | <b>Página</b> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| 4.8.3. Examen por digestión en jugo gástrico artificial o método de digestión artificial..... | 12            |
| 4.9. Fuentes de infección y modo de transmisión.....                                          | 13            |
| 4.9.1. Alimentos implicados.....                                                              | 13            |
| 4.9.2. Patogenia.....                                                                         | 13            |
| 4.10. Anisakiasis Humana.....                                                                 | 13            |
| 4.10.1. Antecedentes históricos.....                                                          | 13            |
| 4.10.2. Síntomas y lesiones.....                                                              | 14            |
| 4.10.2.1. Hipersensibilidad inmediata mediada por IgE...                                      | 14            |
| 4.10.2.2. Efecto local del parásito sobre la pared del tubo digestivo.....                    | 15            |
| 4.10.3. Diagnóstico y tratamiento.....                                                        | 16            |
| 4.10.3.1. Métodos de diagnóstico.....                                                         | 16            |
| 4.10.3.2. Diagnóstico diferencial.....                                                        | 16            |
| 4.10.3.3. Tratamiento.....                                                                    | 16            |
| 4.10.4. Medidas de prevención y control.....                                                  | 17            |
| 4.11. Legislación.....                                                                        | 18            |
| 4.11.1. Unión Europea.....                                                                    | 18            |
| 4.11.2. Food & Drug Administration (FDA).....                                                 | 18            |
| 4.11.3. Comité Internacional de Especificaciones Microbiológicas (ICSMF).....                 | 18            |
| 4.11.4. Agencia española de Seguridad Alimentaria y Nutrición.....                            | 19            |
| 5. OBJETIVOS.....                                                                             | 19            |
| 5.1. Objetivo General.....                                                                    | 19            |
| 5.2. Objetivos Particulares.....                                                              | 19            |

|                                                                             | <b>Página</b> |
|-----------------------------------------------------------------------------|---------------|
| 6. MATERIALES Y MÉTODOS.....                                                | 19            |
| 7. RESULTADOS.....                                                          | 22            |
| 7.1. Larvas de anisákidos en pescadilla ( <i>Cynoscion guatucupa</i> )..... | 22            |
| 7.2. Larvas de anisákidos en calamar ( <i>Illex argentinus</i> ).....       | 27            |
| 8. DISCUSIÓN.....                                                           | 32            |
| 9. CONCLUSIONES.....                                                        | 34            |
| 10. RECOMENDACIONES.....                                                    | 35            |
| 11. BIBLIOGRAFÍA.....                                                       | 36            |

## **LISTA DE CUADROS Y FIGURAS**

|                                                                                                                                                              | <b>Página</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| <b>Figura I</b> Representación esquemática de la parte anterior de la L3 de <i>Anisakis sp.</i> , <i>Pseudoterranova sp.</i> y <i>Contracaecum sp.</i> ..... | 5             |
| <b>Figura II</b> <i>Anisakis simplex</i> y <i>Anisakis sp.</i> .....                                                                                         | 6             |
| <b>Figura III</b> <i>Pseudoterranova sp.</i> ( <i>Porrocaecum sp.</i> ).....                                                                                 | 7             |
| <b>Figura IV</b> <i>Contracaecum sp.</i> .....                                                                                                               | 8             |
| <b>Figura V</b> <i>Hysterothylacium sp.</i> .....                                                                                                            | 9             |
| <b>Figura VI</b> Ciclo biológico de nematodos de la familia Anisakidae.....                                                                                  | 10            |
| <b>Figura VII</b> Planilla de muestreo.....                                                                                                                  | 20            |
| <b>Figura VIII</b> Registro fotográfico de larva de la familia Anisakidae.....                                                                               | 21            |
| <b>Figura IX</b> <i>Anisakis sp.</i> .....                                                                                                                   | 23            |
| <b>Figura X</b> <i>Anisakis sp.</i> .....                                                                                                                    | 23            |
| <b>Figura XI</b> <i>Pseudoterranova sp.</i> .....                                                                                                            | 24            |
| <b>Figura XII</b> <i>Contracaecum sp.</i> .....                                                                                                              | 24            |
| <b>Figura XIII</b> Larva en la superficie de hígado de <i>Cynoscion guatucupa</i> .....                                                                      | 25            |
| <b>Figura XIV</b> Larvas en cavidad abdominal de <i>Cynoscion guatucupa</i> .....                                                                            | 26            |
| <b>Figura XV</b> <i>Anisakis sp.</i> .....                                                                                                                   | 28            |
| <b>Figura XVI</b> <i>Pseudoterranova sp.</i> .....                                                                                                           | 28            |
| <b>Figura XVII</b> <i>Contracaecum sp.</i> .....                                                                                                             | 29            |
| <b>Figura XVIII</b> Larva encapsulada en estómago de <i>Illex argentinus</i> .....                                                                           | 30            |
| <b>Tabla I</b> Resumen de las diferentes sintomatologías y diagnósticos de anisakiasis.....                                                                  | 17            |
| <b>Tabla II</b> Descriptores ecológicos del parasitismo en <i>Cynoscion guatucupa</i> .....                                                                  | 22            |
| <b>Tabla III</b> Prevalencia, intensidad y abundancia de cada género encontrado en <i>Cynoscion guatucupa</i> .....                                          | 26            |

|                   |                                                                                                 |    |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla IV</b>   | Prevalencia, Intensidad y Abundancia de larvas según talla en <i>Cynoscion guatucupa</i> .....  | 27 |
| <b>Tabla V</b>    | Descriptores ecológicos del parasitismo en <i>Illex argentinus</i> ...                          | 27 |
| <b>Tabla VI</b>   | Prevalencia, intensidad y abundancia de cada género Encontrado en <i>Illex argentinus</i> ..... | 31 |
| <b>Gráfico I</b>  | Géneros de anisákidos hallados en <i>Cynoscion guatucupa</i> .....                              | 25 |
| <b>Gráfico II</b> | Géneros de anisákidos hallados en <i>Illex argentinus</i> .....                                 | 29 |

## 1. RESUMEN

Se determinó la presencia de *Anisakis sp.*, *Pseudoterranova sp.* y *Contracaecum sp.*, en *Cynoscion guatucupa* e *Illex argentinus*, por el método de examen visual simple y microscopía óptica. Se encontró una prevalencia de 29,9% del género *Anisakis* en *Cynoscion guatucupa* y una prevalencia de 23,3% del género *Anisakis* en *Illex argentinus*, siendo éstas prevalencias mayores que las halladas en los géneros *Pseudoterranova* (28,9% y 3,3%) y *Contracaecum* (22,4% y 3,3%), también se determinó intensidad y abundancia media para éstos géneros. La totalidad de las larvas en *Cynoscion guatucupa* fueron encontradas en peritoneo visceral, parietal, hígado y gónadas, en *Illex argentinus* se hallaron encapsuladas en la superficie del estómago. En ninguna de las especies se encontraron larvas en el músculo.

**Palabras clave:** anisakiasis, larvas de nematodos, prevalencia, *Cynoscion guatucupa*.

## 2. SUMMARY

*Anisakys sp*, *Pseudoterranovasp.* and *Contracaecum sp.* Larvae were found in *Cynoscion guatucupa* and *Illex argentinus* by visual examination and optical microscopy. Prevalence (P) of *Anisakis* genus was 29,9% in *Cynoscion guatucupa* and P: 23,3% was found in *Illex argentinus*; these P were higher than *Pseudoterranova* (28,4% and 3,3%) and *Contracaecum* (22,4% and 3,3%) genus, intensity and abundance were determined. The larvae were found in visceral peritoneum, parietal peritoneum, liver and gonads in *Cynoscion guatucupa* and all encapsulated larvae were found over stomach in *Illex argentinus*. In both species, no anisakids larvae were found in muscle tissue.

**Key words:** anisakiasis, nematode larvae, prevalence, *Cynoscion guatucupa*

### 3. INTRODUCCIÓN

El pescado es un producto muy importante en la dieta del ser humano, debido a su aporte de proteínas de alta digestibilidad y a su alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados (omega 3).

Como muchos alimentos, el pescado puede contener agentes patógenos afectando la seguridad alimentaria.

Según Huss (1997), más de 50 especies de parásitos helmínticos de peces, moluscos y crustáceos pueden llegar a producir enfermedades en el hombre, sin embargo solo algunas representan un grave riesgo para la salud.

La anisakiasis es una zoonosis parasitaria, el agente etiológico responsable es la larva III (L3) de nematodos de la familia anisakidae, siendo sus huéspedes definitivos mamíferos marinos presentes en mares y océanos de todo el mundo.

La enfermedad se describió por primera vez en el año 1955 en Holanda y desde entonces se fueron registrando numerosos casos alrededor del mundo (Acha, 2003). Japón es el país con mayor prevalencia de anisakiasis humana debido al hábito de consumir diferentes platos de pescado o moluscos crudos o insuficientemente cocidos. También se evidencia en los últimos años un incremento en la tasa de prevalencia de esta zoonosis, en Países Bajos y Corea del Sur; casos aislados se detectaron en Alemania, Bélgica, Dinamarca, Inglaterra, Francia, España e inclusive en países del Continente Americano como Estados Unidos, México, Chile y Perú, ya que la infección puede presentarse en cualquier lugar donde la población o determinadas minorías étnicas consumen pescado crudo habitualmente (Rey y Silvestre, 2005; Acha y Szyfres, 2003; Jay, 1994).

En los humanos las L3 son las responsables de la infección, éstas se encuentran en vísceras o tejido muscular de los peces y cefalópodos parasitados, pudiendo llegar al hombre al ser ingeridos cuando se consumen productos de la pesca crudos o insuficientemente cocidos (Cordero del Campillo, 1999; Jay, 1994).

Debemos considerar la importancia de este parásito tomando en cuenta las repercusiones en salud pública, provocando en el humano cuadros gástricos, intestinales y gastro-alérgicos (Acha y Szyfres, 2003). También debemos considerar los aspectos económicos debido a las pérdidas en la industria pesquera por las depreciaciones de productos como consecuencia de la presencia de los parásitos en el tejido muscular de los peces.

En lugares donde hasta hace poco no se conocía la enfermedad, ha aumentado su prevalencia, esto puede deberse o estar relacionado a viajes, variaciones en gustos gastronómicos o al consumo de platos exóticos de pescados crudos como ser *sashimi*, *isushi*, ceviche y otros (Cordero del Campillo, 1999).

Desde la inspección sanitaria tradicional que realiza el técnico veterinario resulta difícil evitar que los peces parasitados lleguen al consumidor, por lo tanto debemos tomar en cuenta que el mejor método de prevención de la anisakiasis es evitar el consumo de pescado crudo o insuficientemente cocido. Si se desea consumir pescado en estas condiciones se debe congelar previamente como medida preventiva y de control, algunas normas internacionales plantean el uso de este tipo de tecnología como método de destrucción de las larvas de anisákidos (Unión Europea (UE), *Food and Drug Administration* (FDA), Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN)).

En este trabajo se determinó la presencia de larvas de anisákidos en las especies *Cynoscion guatucupa* (pescadilla) e *Illex argentinus* (calamar), los cuales son productos de la pesca comercializados en el mercado montevideano. Uruguay se

presenta como un país donde el consumo de pescado crudo no es un hábito común, pero con las nuevas tendencias gastronómicas introducidas en los últimos años el panorama ha cambiado. Debemos tener en cuenta que las medidas preventivas a tomar en los productos de la pesca son particularmente importantes, aseguran que los objetivos de obtener productos inocuos se cumplan y de esta forma contribuir a evitar consecuencias negativas para la salud pública.

## 4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 Definición

La anisakiasis también conocida como anisaquiosis, anisaquidosis, enfermedad del gusano del arenque, enfermedad del gusano del bacalao, enfermedad del gusano de la foca, es una zoonosis parasitaria producida por L3 de nematodos de la familia Anisakidae.

El hombre puede contraer la enfermedad al consumir pescados o moluscos cefalópodos parasitados crudos o insuficientemente cocidos.

### 4.2 Etiología y Taxonomía

El agente etiológico de esta parasitosis son L3 de nematodos de la familia Anisakidae cuya clasificación taxonómica es la siguiente:

- Orden Ascaridida
- Superfamilia Ascaridoidea
- Familia Anisakidae

Dentro de esta familia se hallan descritos numerosos géneros, destacándose por su interés sanitario los siguientes: *Anisakis*, *Pseudoterranova* (*Phocanema*, *Terranova*), *Contraecum* e *Hysterothylacium* (*Tynnascaris*).

Las especies más mencionadas en la literatura implicadas en parasitosis humana son *Anisakis simplex* y *Pseudoterranova decipiens* (Acha y Szyfres, 2003).

### 4.3 Generalidades de Nematodos

Los nematodos son gusanos redondos, no segmentado, con extremos puntiagudos. Podemos encontrar nematodos fusiformes y filiformes. Desprovistos de cilios y rodeados por una cubierta corporal que consta de dos capas: cutícula e hipodermis.

La talla puede variar desde milímetros hasta metros, como ser el caso del *Placentonema gigantissima* (parásito del cachalote).

Por debajo de la cutícula, encontramos la epidermis (hipodermis) sincitial, por dorsal y ventral corren dos cordones nerviosos y por los laterales llevan los conductos de las células de Rannete (excretor).

Solo presentan musculatura longitudinal.

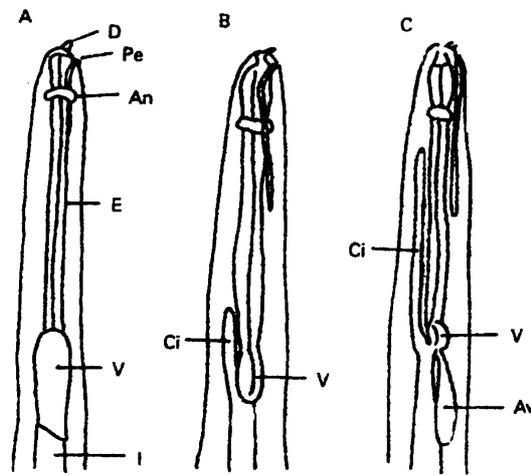
La boca generalmente provista de labios con estiletes, presenta un esófago (principalmente como órgano de succión) el cual es un potente órgano muscular, de sección trirradiada y revestida por una gruesa cutícula.

Hay más de 12.000 especies conocidas de nemátodos, podemos encontrarlos libres o adaptados a la vida parasitaria como es el caso de la familia Anisakidae.

#### 4.4 Características Morfológicas de los Géneros *Anisakis*, *Pseudoterranova*, *Contraecum* e *Hysterothylacium*

Cómo características fundamentales de las L3 de los diferentes géneros de anisákidos debemos tener en cuenta ciertas estructuras de su anatomía para llegar a una correcta identificación (figura I).

##### Representación esquemática de la parte anterior de la L3 de *Anisakis* sp., *Pseudoterranova* sp. y *Contraecum* sp.



**Figura 48-26.** (A) Representación esquemática de la parte anterior de la L-III de *Anisakis*. (B) *Pseudoterranova*. (C) *Contraecum*. (D, diente cuticular; Pe, poro excretor; An, anillo nervioso; E, esófago; V, ventrículo; I, intestino; Ci, ciego intestinal; Av, apéndice ventricular;.

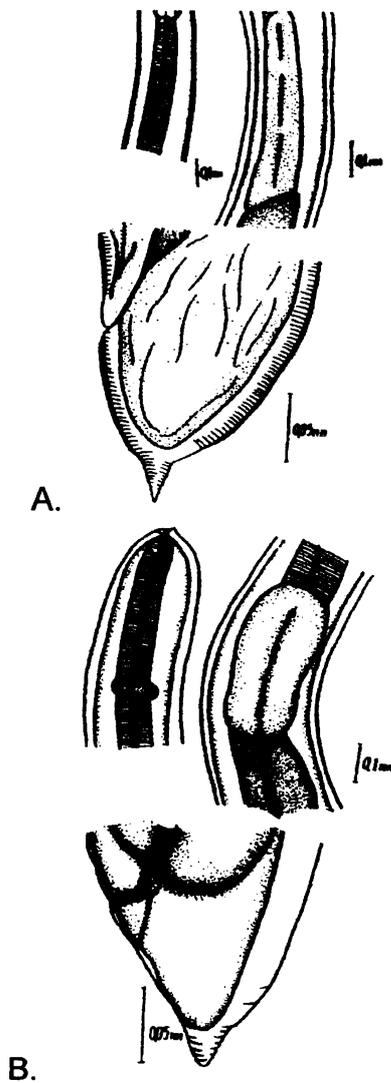
#### **Figura I**

(Fuente: Cordero del Campillo, 1999)

Los criterios morfológicos utilizados para la identificación de las larvas presentes en los peces son: la forma y el tamaño del ventrículo esofágico y la presencia o ausencia de apéndice ventricular y ciego intestinal (Cordero del Campillo, 1999).

4.4.1 Características morfológicas de la larva III del género *Anisakis*  
(Figura II)

- a) diente cuticular ventral
- b) poro excretor situado entre las bases de los labios subventrales
- c) un ventrículo
- d) ausencia de apéndice ventricular
- e) ausencia de ciego intestinal
- f) color blanquecino
- g) plano de unión ventrículo-intestino oblicuo (*Anisakis simplex*)
- h) extremo posterior de forma cónica finalizando en un mucrón



**Figura II**

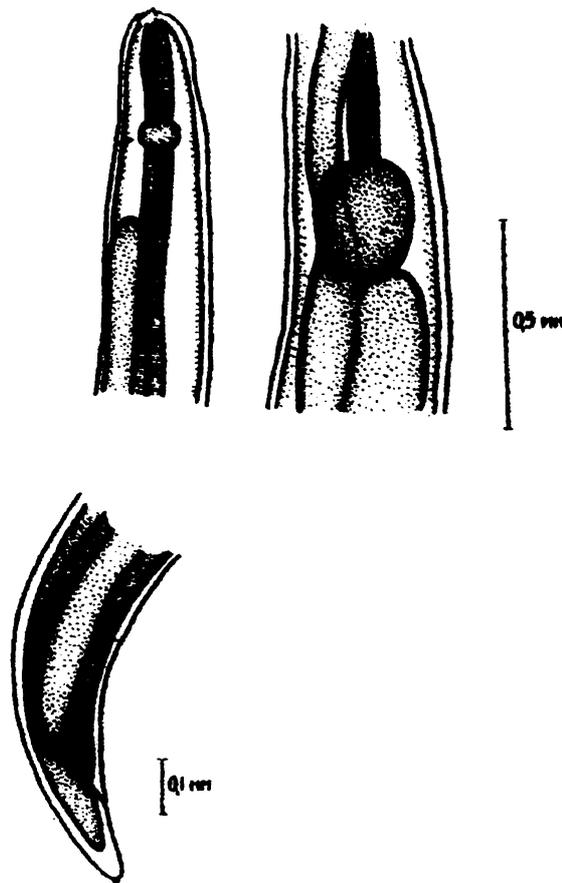
A. *Anisakis simplex*

B. *Anisakis sp.*

(Fuente: Nigmatullin y Shukhgálter, 1990)

4.4.2 Características morfológicas de la larva III del género *Pseudoterranova*  
(Figura III)

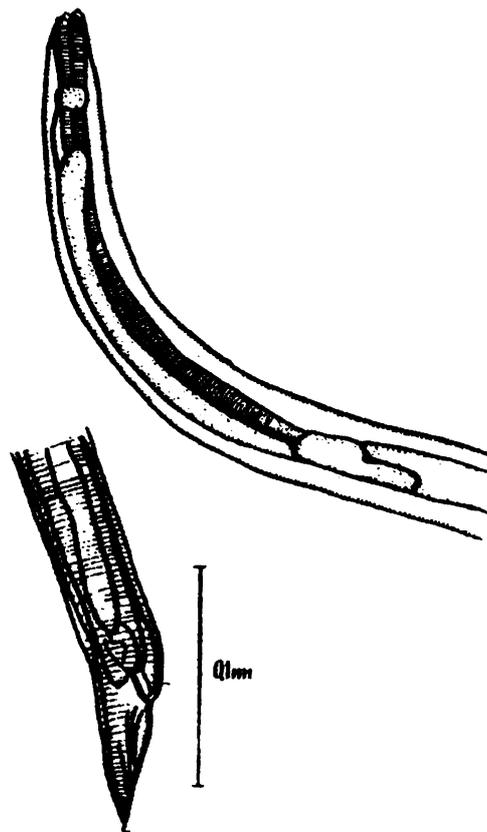
- a) diente cuticular cónico y prominente
- b) poro excretor situado entre las bases de los labios subventrales
- c) un ventrículo
- d) presencia de ciego intestinal
- e) color amarillo-rojizo
- f) cola redondeada con mucrón cónico



**Figura III**  
*Pseudoterranova* sp. (*Porrocaecum* sp.)  
(Fuente: Nigmatullin y Shukhgálter, 1990)

4.4.3 Características morfológicas de la larva III del género *Contracaecum*  
(Figura IV)

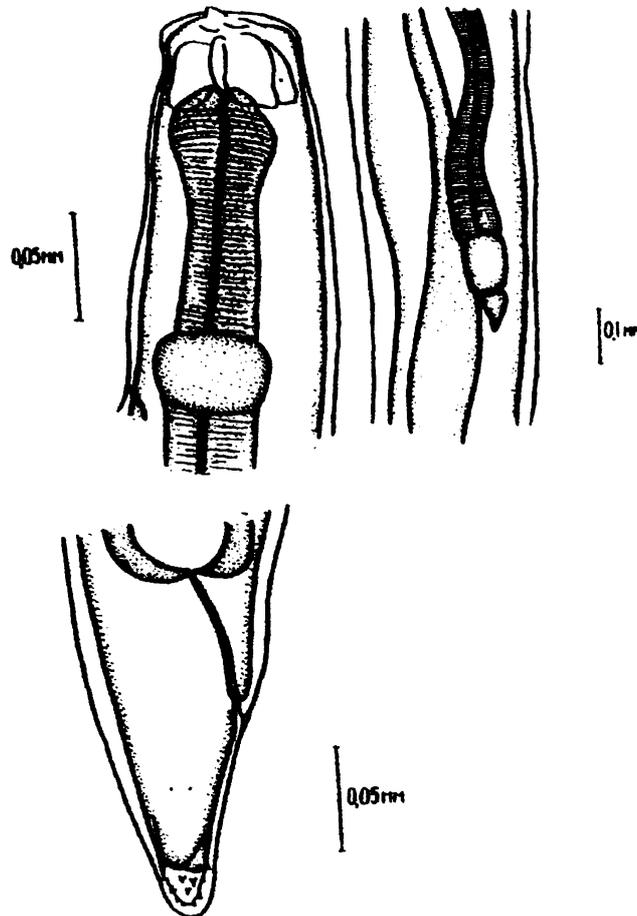
- a) Diente cuticular y cónico, ligeramente romo
- b) Poro excretor en el extremo anterior
- c) Ventriculo pequeño y esférico
- d) Presencia apéndice ventricular
- e) Presencia de ciego intestinal
- f) Color blanquecino
- g) Cola cónica, sin mucrón
- h) Cutícula con estriaciones transversales



**Figura IV**  
*Contracaecum* sp.  
(Fuente: Nigmatullin y Shukhgálter, 1990)

#### 4.4.4 Características morfológicas de la larva III del género *Hysterothylacium* (Figura V)

- a) Poro excretor se abre a la altura del anillo nervioso
- b) Presencia de ciego intestinal
- c) Ventrículo esofágico con un apéndice posterior de medida similar al ciego
- d) Cola con espinas terminales
- e) Color blanquecino



**Figura V**

*Hysterothylacium* sp.

(Fuente: Nigmatullin y Shukhgálter, 1990)

#### 4.5 Distribución Geográfica

La familia Anisakidae se encuentra en la mayoría de los océanos y mares del mundo.

La enfermedad puede presentarse en cualquier país donde la población en general o determinadas minorías étnicas consumen tradicionalmente pescado o moluscos cefalópodos crudos o con un tratamiento térmico insuficiente, Japón es el país con mayor incidencia de casos debido a los hábitos en su alimentación; en los últimos años se ha incrementado la tasa de prevalencia de esta zoonosis en Países Bajos y Corea del Sur.

También se detectaron casos aislados en Alemania, Bélgica, Dinamarca, Inglaterra, Francia, España.

En el Continente Americano la infección humana por esos nematodos fue descrita en Chile, Perú, Brasil, Estados Unidos y México.

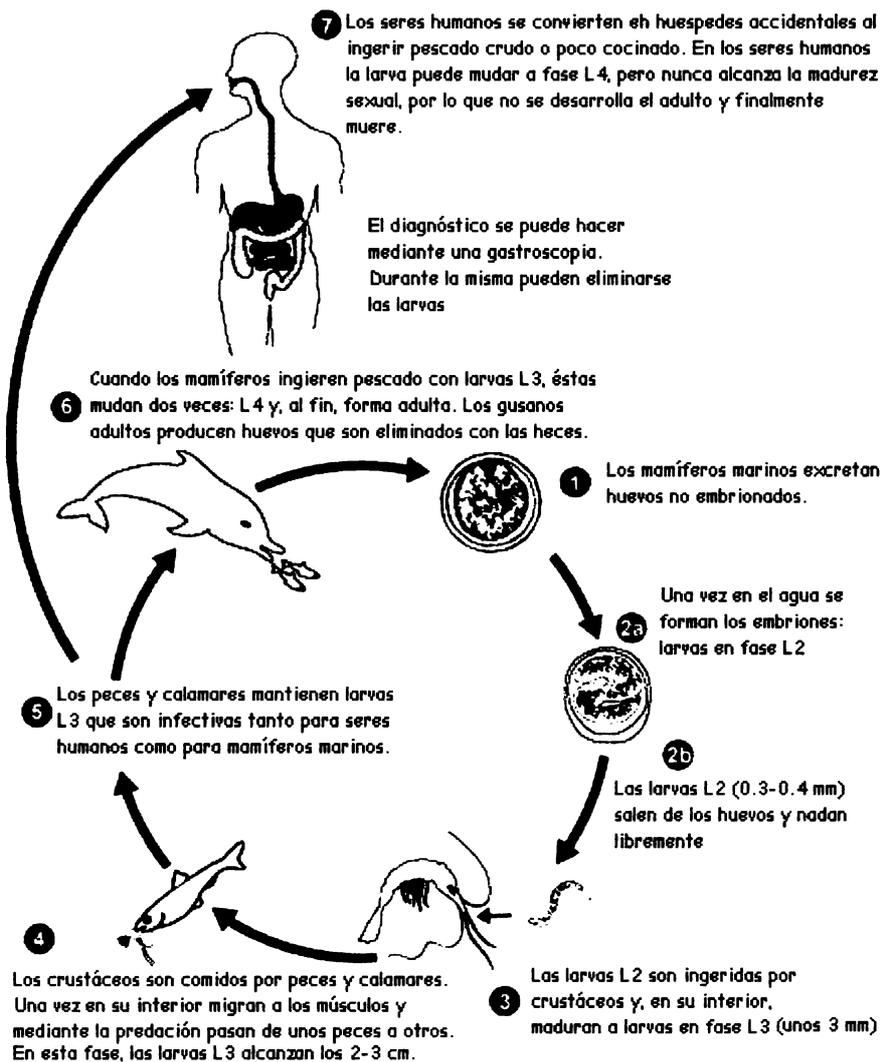
En Argentina se han hallado larvas de anisákidos en peces de agua dulce, en un trabajo realizado por Hamann, 1999 en la cuenca del Riachuelo ubicada en el extremo noroccidental de la provincia de Corrientes, la mayoría de los peces examinados están infectados por larvas de *Contracaecum sp*

Pardo y col., 2007 se reportaron en Colombia la presencia de larvas de la familia Anisakidae (*Contracaecum sp.*) en peces de los ríos Sinú y San Jorge.

#### 4.6 Ciclo Biológico

Las especies de la familia Anisakidae responsables de la enfermedad en el hombre utilizan mamíferos marinos (cetáceos y pinnípedos) como hospedadores definitivos y todo el ciclo se completa en el medio acuático. (Cordero del Campillo, 1999)

#### Ciclo Biológico de Nematodos de la Familia Anisakidae



**Figura VI**

(Traducido de: <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>)

El ciclo biológico (Figura VI) de estos parásitos está constituido por un estadio de huevo, 4 fases larvianas (L1, L2, L3 y L4) y adulto con sexos separados.

Los adultos de los géneros *Anisakis* y *Pseudoterranova* se encuentran en estómago e intestino de mamíferos marinos y los adultos de *Contracaecum sp.* se encuentran en tracto digestivo de peces osteíctios.

Los adultos se alojan en la mucosa gástrica o intestinal del huésped definitivo donde la hembra libera sus huevos al medio ambiente marino.

Los huevos son elipsoidales, de cáscara gruesa, miden aproximadamente 46-58 x 41-53  $\mu\text{m}$  y no están embrionados cuando son eliminados al agua junto con las heces del hospedador definitivo. (Cordero del Campillo, 1999)

En este medio una vez embrionados eclosionan como L2, esta larva libre es ingerida por pequeños crustáceos planctónicos (principalmente eufásidos) en los que se desarrolla la L3 infectante para los hospedadores definitivos.

Las larvas sobreviven en el agua 3-4 semanas a 13-18°C y 6-7 semanas a 5-7°C por encima de los 20°C aumenta la mortalidad. (Rello y col., 2004)

En el ciclo biológico participan gran variedad de peces y cefalópodos que ingieren hospedadores intermediarios con L3 lo que aumenta la probabilidad de infectar un hospedador definitivo ya que es muy difícil que éste se alimente casi exclusivamente de pequeños crustáceos, hospedadores intermediarios.

Las larvas de anisákidos pueden causar alteraciones patológicas en muchas especies de peces marinos. Pueden verse afectados varios órganos, y el número de larvas en algunos casos llega a varios cientos por pez. El órgano más afectado suele ser el hígado y su atrofia es la alteración más común. (Acha y Szyfres, 2003)

Si los hospedadores intermediarios que contengan la forma larvaria L3, son ingeridos por mamíferos marinos, la larva se adhiere a la pared gástrica evolucionando al cuarto estadio larvario L4 y posteriormente a adulto, cerrándose así el ciclo.

El hombre es un huésped accidental que se interpone en el ciclo cuando ingiere pescado o cefalópodos crudos o insuficientemente cocidos.

En el hombre la L3 no llega a desarrollarse o solo alcanza el cuarto estadio, y finalmente muere.

#### **4.7 Localización de las Larvas en Peces Hospederos**

La localización de las larvas en los hospedadores es muy variable, se pueden encontrar en la superficie hepática, entre los mesenterios, gónadas o en la submucosa del tubo digestivo.

Cuando han sido adquiridas recientemente por ingestión de hospedadores intermediarios infectados, pueden encontrarse libres en la luz del intestino o penetrando a través de su pared (Cordero del Campillo, 1999).

También podemos encontrar a las larvas enrolladas en espiral y encapsuladas en distintos órganos del tubo digestivo (hígado, estómago, etc.), mesenterio y en tejido muscular (según Herreras y col. 2000, más frecuente en región hipoaxial).

A las pocas horas de la llegada de las larvas a la cavidad visceral comienza su encapsulación. Los sitios más frecuentes de encapsulación son el hígado y mesenterio, sobretodo el que rodea el tracto intestinal. También pueden encontrarse larvas enquistadas en la musculatura, principalmente en los músculos hipoaxiales y ventrales, ya que son estos los que rodean la cavidad visceral y por lo tanto, lo

primero que encuentra la larva en su migración desde el lumen del tracto intestinal (Rello; Adroher y Valero, 2004)

Según un trabajo realizado por Botto, Osimani y Mañé en el año 1976, hallaron larvas de *Anisakis sp.* en merluza (*Merluccius hubbsi*) localizadas en el hígado en quistes lenticulares, subcapsulares y pigmentados, en 91 casos (50,5%) y también hallaron larvas libres en peritoneo (33,3%), en mesos genitales (5,5%), en mesos digestivos (5%), en retroperitoneo (5,5%) y en el espesor de la pared gástrica (0,5%). No hallaron larvas en el tejido muscular de la merluza.

#### **4.8 Métodos de Detección de Larvas de Anisákidos en el Pescado**

Existen varios métodos para la detección de larvas de nematodos en el músculo y/o las vísceras de los productos de la pesca, aunque la mayoría exigen deteriorar la pieza de pescado en su totalidad.

Alguno de los métodos utilizados (Gago y col., 2006):

##### **4.8.1 Examen visual simple (macroscópico)**

Consiste en la búsqueda directa de las larvas en la superficie de las vísceras y en el músculo del pescado mediante cortes de un espesor de 5 milímetros aproximadamente, tarea que se realiza con pinzas y tijeras.

##### **4.8.2 Examen por transiluminación "Candling"**

Se utiliza este método para visualizar larvas en la profundidad del tejido muscular de los pescados, proyectando una fuente luminosa por la parte inferior, este trabajo se realiza con mesas iluminadas (parasitoscopio).

Las larvas se ven como sombras oscuras en el músculo y se pueden extraer con pinzas y cuchillas.

Es una técnica con baja eficacia, no es recomendable para pescado con musculatura pigmentada y no se puede aplicar sobre una pieza entera.

##### **4.8.3 Examen por digestión en jugo gástrico artificial o método de digestión artificial**

En este método se somete la muestra de pescado (vísceras y/o músculo) a la acción de una solución digestiva (ácido clorhídrico y pepsina), reproduciendo las condiciones físico-químicas del estómago de los mamíferos, se recuperan las larvas mediante la digestión del tejido muscular que las rodea.

Con esta solución a pH 2 se incuba a 37°C, agitando suavemente, por un período aproximado de 24 horas. Posteriormente la muestra se pasa por un filtro observando las larvas que quedan retenidas.

Es una técnica que permite recoger mayor cantidad de larvas, pero es una técnica costosa, destructiva, se utiliza para búsquedas más precisas en un pequeño número de especímenes.

Por lo antes mencionado no es una técnica de rutina para realizar en planta frigorífica.

## 4.9 Fuentes de Infección y Modo de Transmisión

Según Ferre (2001), hay una gran variedad de pescados y mariscos, que pueden transmitir la anisakiasis. Entre ellos podríamos mencionar: Merluza (*Merluccius hubbsi*), Caballa (*Scomber scombrus*), Atún (*Thunnus thynnus*), Salmón (*Salmo salar*), Arenque (*Clupea harengus*), Boquerón (*Engraulis encrasicolus*), Pulpo (*Octopus vulgaris*), Calamar (*Loligo vulgaris*), entre otros.

### 4.9.1 Alimentos implicados elaborados a base de pescados o moluscos crudos, poco cocido, ahumado, salado, conservado en vinagre o curados con limón como por ejemplo:

Gravlax en Noruega, Finlandia o Suecia.  
Cebiche en Perú y Chile.  
Boquerones en vinagre en España.  
Arenques salados o escabechados en Holanda.  
Sashimi, isushi en Japón.  
Lomi Lomi en Hawai.

### 4.9.2 Patogenia:

La ingestión de pescado o moluscos portadores de L3 de anisákidos, pueden provocar en el hombre la aparición de diferentes patologías.

Las larvas infectantes llegan con los alimentos al tracto digestivo pudiéndose localizar en la mucosa gástrica o en la intestinal.

En el estómago, la larva se fija a la mucosa, y mediante la acción de peptidasas produce fenómenos irritativos locales que ocasionan síntomas inespecíficos, provocando sensación de plenitud, epigastralgia y vómitos. Si el parásito no es eliminado el cuadro evoluciona hacia una forma subaguda o crónica.

En ciertos casos las larvas pueden atravesar la pared gástrica o intestinal pudiendo originar granulomas o abscesos acompañados de eosinofilia, fiebre y diarrea.

Eventualmente pueden llevar a la confusión con cuadros de apendicitis o provocar verdaderas apendicitis así como cuadros obstructivos intestinales.

También se lo ha vinculado a casos de poliartritis y en otras localizaciones tales como pulmón, bazo, hígado y páncreas. (Zuloaga y col., 2004)

En pacientes sensibles se han diagnosticado reacciones alérgicas; el parásito posee varios antígenos que pueden llegar a inducir la síntesis de IgE, y ocasionar estos cuadros alérgicos, variando desde una simple urticaria hasta un angioedema e incluso un *shock* anafiláctico. (Zuloaga y col., 2004)

## 4.10 Anisakiasis Humana

### 4.10.1 Antecedentes Históricos

Enfermedad que está relacionada estrechamente a los hábitos alimentarios de la población, se diagnostica mayormente en países donde se acostumbra a comer pescado crudo o con tratamiento térmico insuficiente.

El primer caso fue reportado en Holanda por Straubb en el año 1955 (boquerones de arenque), desde entonces numerosos nuevos casos se han descrito mundialmente. Japón es el país con más pacientes diagnosticados, más de 2000 casos anuales, casi el 95% del total mundial. (Rello y col., 2004)

En Europa (Países Bajos, Alemania, Francia, Italia y España) se notifican alrededor de 500 casos por año y en Estados Unidos 50 casos por año. En América Latina se han reportado casos humanos en Chile, Perú, Brasil y Argentina. (Bandes y col., 2005)

La lista de países en los que se han declarado casos clínicos es muy numerosa, figurando, entre otros: Alemania, Brasil, Canadá, Chile, Corea, Dinamarca, España, Estados Unidos, Francia, Noruega, Nueva Zelanda, Portugal y Reino Unido. (Rello y col., 2004)

Según estudios realizados por Barriga y col.(1999), la incidencia de casos aumenta por la presencia de comidas a base de pescado crudo o semi-crudo como el "Ceviche", preparado con jugo de limón y especias que no disminuyen la viabilidad de las larvas presentes; en Perú se han reportado 3 casos y es muy probable un subregistro de casos por la poca información sobre esta enfermedad y posiblemente por confundir la larva de *Anisakis* con un estadio temprano en el desarrollo del *Áscaris*.

En España el primer caso fue descrito por Arrenal-Vera et al. en 1991. (Ferre, 2001).

En Uruguay se hallaron índices de infección por *Anisakis sp.* en merluza (*Merluccius hubbsi*) y en pescadilla (*Cynoscyón guatucupa*) en un trabajo realizado por Botto y Mañé , 1976.

Los mismos autores comentan en ese trabajo que en Uruguay se comunico un caso humano de parasitismo de la mucosa gástrica y en Venezuela varios casos de iliocolitis pseudotumoral eosinofílica producidas por larvas de nemátodos no identificados, y esto sugiere según Botto y Mañé que el diagnóstico de esta parasitosis es difícil, y que la mayoría de los casos pueden haber pasado desapercibidos en el pasado.

Hasta la fecha no se han registrado casos de anisakiasis humana en Uruguay.

#### 4.10.2 Síntomas y lesiones

Los anisákidos pueden producir la enfermedad en el ser humano mediante dos mecanismos:

- Debido a la hipersensibilidad inmediata mediada por IgE
- Mediante el efecto local del parásito sobre la pared del tubo digestivo. (Zuloaga y col., 2004)

##### 4.10.2.1 Hipersensibilidad inmediata mediada por IgE:

El parásito posee varios antígenos que pueden inducir la síntesis de IgE, ocasionando diversos cuadros alérgicos.

Las manifestaciones alérgicas que se pueden presentar es muy variada: urticaria, angioedema, hipotensión y shock anafiláctico, e incluso asma o empeoramiento de un asma previo.

Puede variar la intensidad de los cuadros pero lo único característico es el antecedente de ingesta de pescado poco cocido horas previas a la presentación de los síntomas. (Zuloaga y col., 2004)

A veces aparecen síntomas clínicos digestivos junto a manifestaciones cutáneas o anafilácticas, lo que se conoce como “forma gastroalérgica”, en la que predominarían los síntomas alérgicos y las manifestaciones digestivas quedan en un segundo plano.

Según Gago y col. (2006), podemos diferenciar dos tipos de reacciones alérgicas mediadas por *Anisakis simplex*:

- Reacción anafiláctica inducida por antígenos termoestables que se desarrolla aunque se consuma el pescado cocido o congelado.
- Anisakiasis gastroalérgica desencadenada por la ingesta de pescado crudo o insuficientemente cocido. Se diagnostica en pacientes que tras la ingesta de pescado bien cocido dan positivo al alérgeno en las pruebas cutáneas y en las de IgE específica y negativas en las del pescado implicado en la reacción.

Según Audicana y col. (2008), desde 1960 se asocia la anisakiasis gastroalérgica desencadenada por la ingesta de pescado crudo o insuficientemente cocido, y desde 1990 se asocia la reacción anafiláctica al consumo de pescado cocido o congelado. Estos autores estudiaron la patogénesis de las reacciones de hipersensibilidad, sus alérgenos y mediadores.

#### 4.10.2.2 Efecto local del parásito sobre la pared del tubo digestivo:

Anisakiasis gástrica o intestinal: las larvas llegan hasta la submucosa mediante la acción de una peptidasa, causando dolor epigástrico.

Estas larvas pueden anclarse en el estómago (forma gástrica) o en el intestino (forma intestinal), si no se extraen las larvas, la enfermedad evoluciona a una forma subaguda o crónica, pudiendo las larvas atravesar la pared gástrica o intestinal originando inflamaciones junto con fiebre, diarrea y dolor abdominal. (Gago, 2006)

En la forma gástrica los síntomas digestivos aparecen rápidamente, en general entre una a 24 horas con una media de 6 horas pos ingesta, los síntomas que pueden presentarse son náuseas, vómitos, gastralgia, sangre oculta en las heces y puede aparecer como hallazgo de laboratorio eosinofilia pero no leucocitosis.

Según Zuloaga y col., 2004, la localización gástrica se produce en un 60-70% de los casos.

En la forma intestinal el período de latencia es de una semana, los síntomas que pueden presentarse son dolor hipogástrico, náuseas, vómitos, fiebre, sangre oculta en las heces y como hallazgo de laboratorio leucocitosis marcada.

La mucosa afectada del intestino delgado, sobre todo en el íleon, se encuentra recubierta frecuentemente de un exudado fibrinoso que, junto con el edema de la pared, puede provocar cuadros de obstrucción intestinal. También puede localizarse la larva en otros sitios del tracto digestivo como ciego, apéndice, colon y recto. (Rello y col., 2004)

Se conoce una forma de presentación asintomática de la enfermedad, se da cuando el parásito no penetra los tejidos y permanece en el lumen del estómago o del intestino, por lo general esta forma es dada por *Pseudoterranova sp.* (Acha y Szyfres, 2003)

Se ha descrito también una afección mesentérica con ganglios regionales aumentados de tamaño. En menor número de casos se han encontrado larvas en el páncreas, la vesícula biliar y el pulmón. (Zuloaga y col., 2004)

#### 4.10.3 Diagnóstico y Tratamiento

##### 4.10.3.1 Métodos de Diagnóstico:

Para llegar a un correcto diagnóstico de la enfermedad, la anamnesis es imprescindible. Se debe investigar el consumo de pescado o cefalópodos crudos o insuficientemente cocidos en las horas o días previos a la aparición de los síntomas. El diagnóstico directo por medio del estudio del parásito es el método preferido, pero en el 50% a 70% de los casos gástricos es posible visualizar y recuperar el parásito por endoscopia. (Acha y Szyfres, 2003)

Se puede realizar una endoscopia gástrica en las horas o días siguientes a la aparición de los síntomas y así poder observar las larvas fijadas a la pared gástrica. La radiografía es otra técnica de diagnóstico que se emplea para detectar la larva. Se utiliza en menor medida que la endoscopia debido a su menor eficacia. Sin embargo, es necesaria cuando no se puede realizar una endoscopia por causa de alguna lesión en el paciente. (Gago y col., 2006)

Otro método de diagnóstico el examen anatomopatológico cuando se ha realizado una laparotomía exploratoria con resección del tramo intestinal afectado, permite confirmar la existencia de larvas o restos de ella.

El examen de sangre puede evidenciar eosinofilia o leucocitosis según sea el caso. Las pruebas serológicas, particularmente el ELISA y la inmunoelectrotransferencia, son muy útiles para la evaluación clínica; sin embargo, se han notificado reacciones cruzadas con *Áscaris*. (Acha y Szyfres, 2003)

##### 4.10.3.2 Diagnóstico Diferencial:

Debido a que los síntomas clínicos son poco específicos, hay un gran número de procesos que son difíciles de distinguir de la Anisakiasis, por esta razón ha sido frecuentemente infradiagnosticada.

- Anisakiasis Gástrica: úlcera péptica, tumor gástrico, gastritis aguda.
- Anisakiasis Intestinal: peritonitis, apendicitis.
- Anisakiasis Gastroalérgica: hipersensibilidad, histamina, cuadros alérgicos.

##### 4.10.3.3 Tratamiento:

Según Ferre (2001), no hay fármacos eficaces para esta afección por lo que el tratamiento de elección es la remoción mecánica por endoscopia.

Según Bolado y col. (2003), el mebendazol y el tiabendazol serían eficaces, pero Zuloaga y col. (2004), opinan que la eficacia del tratamiento con antihelmínticos, así como la administración de corticoides, con el fin de reducir el edema parietal no ha sido probada en ensayos clínicos, y según estos autores existe un único trabajo reciente donde se demuestra la eficacia *in vitro* y en cobayas de la ivermectina y el albendazol contra *Anisakis spp.*

En el caso de las alergias el tratamiento se basa en el uso de antihistamínicos, corticoides y adrenalina si se produce anafilaxia. (Gago y col., 2006)

En la tabla I se resumen las diferentes sintomatologías de la Anisakiasis y su diagnóstico.

#### Resumen de las Diferentes Sintomatologías y Diagnósticos de Anisakiasis

| Anisakiasis        | Digestiva                                                             |                                                                                   | Alérgica                                                                                              |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                    | Gástrica                                                              | Intestinal                                                                        |                                                                                                       |
| <b>Síntomas</b>    | -Nauseas<br>-Vómitos<br>-Sangre oculta en heces<br>-Gastralgia        | -Nauseas<br>-Vómitos<br>-Sangre oculta en heces<br>-Dolor hipogástrico<br>-Fiebre | -Urticaria<br>-Prurito<br>-Conjuntivitis<br>-Exemas<br>-Anafilaxia<br>- <i>Idem.</i> cuadro digestivo |
| <b>Diagnóstico</b> | -endoscopia<br>-radiología<br>-hallazgos de laboratorio (eosinofilia) | -examen anatomopatológico<br>-hallazgos de laboratorio (eosinofilia)              | -IgE específica<br>-Determinación de Ag (Elisa)                                                       |

**Tabla I**

#### 4.10.4 Medidas de Prevención y control

La Anisakiasis se puede prevenir evitando el consumo de pescado crudo o insuficientemente cocido.

La mayoría de las especies de anisákidos peligrosos para el hombre mueren cuando son expuestos a temperaturas de -20°C por 24 horas o de 60°C por un minuto. (Acha y Szyfres, 2003)

Medidas preventivas antes de la comercialización, para disminuir el riesgo de padecer Anisakiasis, según el informe de Vigilancia Tecnológica realizado para la Asociación de Pescadores de la Comunidad Autónoma de Madrid (ADEPESCA), 2006:

- Evisceración del pescado en alta mar, inmediatamente después de su captura.
- Someter a las vísceras a algún tratamiento antes de eliminarlas al mar para destruir las larvas y que no infestan a otros peces.
- Examen visual del pescado en el desembarco y eliminación de aquellas partidas muy parasitadas.

La obligatoriedad de someter el pescado a bajas temperaturas antes de comercializarlo ha disminuido drásticamente la infección en los Países Bajos. (Acha y Szyfres, 2003)

Como consecuencia del incremento de casos de anisakiasis, la Unión Europea, la FDA (*U.S. Food & Drug Administration*), el ICSMF (Comité Internacional de Especificaciones Microbiológicas) y la AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición), han establecido reglamentos, recomendaciones y guías para prevenir y minimizar su efecto negativo en la salud pública.

## **4.11 Legislación**

### **4.11.1 Unión Europea**

Reglamento (CE) N° 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal, especifica que los productos de la pesca que se consumirán crudos o prácticamente crudos, se congelen a una temperatura igual o inferior a  $-20^{\circ}\text{C}$  en la totalidad del producto, durante un período de al menos 24 horas.

Dicho tratamiento debe aplicarse a productos procedentes de ciertas especies sometidas a un proceso de ahumado en frío en el que la temperatura central del producto de la pesca no sobrepase los  $60^{\circ}\text{C}$ , y a productos de la pesca en escabeche o salados, cuando los mencionados procesos no sean suficientes para destruir las larvas de nematodos. (Gencat, 2007)

Por su parte el Reglamento (CE) N° 2074/2005 de la Comisión, de 5 de diciembre de 2005, establece normas detalladas que recaen sobre los operadores de empresas alimentarias relativas a las inspecciones visuales para detectar parásitos en los productos de la pesca. (Boletín Oficial Español, 2006)

#### **1.11.2 Food & Drug Administration (FDA)**

- a) Congelación y almacenaje a una temperatura  $\leq -20^{\circ}\text{C}$  durante 7 días (temperatura total) en un congelador doméstico; congelación a  $\leq -35^{\circ}\text{C}$  hasta que solidifique y almacenaje a la misma temperatura durante 15 horas;
- b) congelación a  $\leq -35^{\circ}\text{C}$  hasta que solidifique y almacenaje a  $\leq -20^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. (Departamento de Salud. Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria, 2007)

#### **4.11.3 Comité Internacional de Especificaciones Microbiológicas (CCSMF)**

- a) Aconseja congelar a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, alcanzar los  $70^{\circ}\text{C}$  en el centro térmico de la pieza.
- b) La sacarosa también puede inactivar al parásito requiriéndose concentraciones del 12% por 35 días mínimo.
- c) Por acidificación se necesitan 35 días a un pH de 4,2 y 6% de NaCl en el músculo. (AESAN, 2005)

#### 4.11.4 Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN)

Real Decreto 1420/2006, de 1º de diciembre, sobre prevención de la parasitosis por *Anisakis* en productos de la pesca suministrados por establecimientos que sirven comida a los consumidores finales o a colectividades:

- a) Los establecimientos que sirven comida a los consumidores finales o a colectividades estarán obligados a congelar previamente al pescado que vaya a ser consumido crudo o poco cocido, a una temperatura  $\leq -20^{\circ}\text{C}$  durante al menos 24 horas para destruir al parásito.
- b) Además, deberán poner en conocimiento de sus clientes, a través de carteles en las cartas del menú, entre otros procedimientos, que los productos que van a consumir han sido sometidos a esta congelación.
- c) Coincidiendo con la aprobación del decreto, los ministros de Sanidad y Agricultura, Pesca y Alimentación lanzan una campaña informativa sobre consejos básicos para prevenir la Anisakirosis, destinada a establecimientos que sirven comida a los consumidores finales o a colectividades.
- d) La AESAN pondrá también en marcha un plan nacional de control del *Anisakis spp.* en toda la cadena alimentaria. ([www.aesan.msc.es](http://www.aesan.msc.es))

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo General

Determinar macroscópicamente y cuantificar la infección por larvas de anisákidos, en *Cynoscion guatucupa* (pescadilla) e *Illex argentinus* (calamar).

### 5.2 Objetivos Particulares

- a) Reconocer morfológicamente macro y microscópicamente la presencia de larvas de anisákidos en *Cynoscion guatucupa* (pescadilla) e *Illex argentinus* (calamar).
- b) Determinar los diferentes géneros de larvas de la familia Anisakidae presentes en *Cynoscion guatucupa* (pescadilla) e *Illex argentinus* (calamar).
- c) Determinar descriptores ecológicos del parasitismo (Prevalencia, Intensidad y Abundancia media)

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

Se examinaron 67 ejemplares de pescadilla de calada (*Cynoscion guatucupa*), capturadas en el Río de la Plata y 30 ejemplares de calamar (*Illex argentinus*), los cuales fueron capturados en el atlántico sudoccidental.

El período de recolección de muestras estuvo comprendido entre abril y mayo de 2008, con una frecuencia semanal.

Se investigó la presencia de anisákidos por el método de **observación visual directa**, previamente de comenzar con la disección los diferentes ejemplares fueron identificados individualmente tomando registro de peso y talla (longitud estándar en el caso de la pescadilla).

El próximo paso fue la apertura de la cavidad abdominal dónde se examina visualmente las vísceras y el peritoneo buscando la presencia de parásitos nematodos.

Las vísceras fueron retiradas para una inspección macroscópica detallada, cómo complemento de esta inspección se procedió a la apertura del aparato digestivo para verificar su contenido.

Todo el material colectado se conservó en alcohol 70° en tubos *Eppendorf* debidamente identificados, correspondiendo cada tubo a los parásitos de un mismo ejemplar.

Para la recolección de datos se utilizó una planilla de muestreo especialmente diseñada para estos fines (figuraVII).

| <b><u>PLANILLA DE MUESTREO</u></b> |                                                       |
|------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| FECHA:                             |                                                       |
| Nº MUESTRA:                        |                                                       |
| ORIGEN DE EJEMPLAR:                |                                                       |
| TEMPERATURA DE EJEMPLAR:           |                                                       |
| LONGITUD DEL EJEMPLAR:             |                                                       |
| PESO DEL EJEMPLAR:                 |                                                       |
| SEXO DEL EJEMPLAR:                 | <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> M |
| INFESTADO (SI/NO):                 |                                                       |
| Nº PARÁSITOS POR EJEMPLAR:         |                                                       |
| LOCALIZACIÓN:                      |                                                       |
|                                    | 1. CAVITARIA                                          |
|                                    | 2. VISCERAL                                           |
|                                    | 3. MUSCULAR                                           |
| Nº DE TUBO:                        |                                                       |
| OBSERVACIONES:                     |                                                       |

**Figura VII**

Finalizadas las tareas de recolección de muestras se comienza con la identificación de las larvas de nematodos, basándose en la descripción de las características morfológicas de la familia Anisakidae. (Nigamatullin y Shukhgáler, 1990; Cordero del Campillo, 1999; Hurst, 1984)

Previo a la observación microscópica, las larvas fueron aclaradas, colocándolas en solución de lactofenol por 24 horas para poder apreciar las estructuras internas que ayudan a su identificación morfológica.

Las características morfológicas tenidas en cuenta para la identificación fueron:

- a. Posición del poro excretor
- b. Forma de la cola
- c. Longitud y forma del ventrículo
- d. Presencia, longitud y posición del ciego intestinal
- e. Presencia o ausencia del apéndice ventricular

Para las tareas de identificación se utilizó:

- Microscopio estereoscópico: Nikon SMZ-10
- Microscopio óptico: Ernst Leitz Wetzlar; objetivos: 3 ½ / 0,10 y 10 / 0,45
- Lupa vincha: P-23 II, aumentos: X 1.8, X 2.3, X 3.7
- Lupa de mano: HI-POWER-COIL 2.3

Se tomaron registros fotográficos de los ejemplares más representativos de los diferentes géneros estudiados (Olympus BX50; Rainbow CCTV HI-RES CLD46D 1/3" DSP CCD CAMERA; aumento 10 X 0.25).

#### Registro fotográfico de larva de la familia anisakidae



**Figura VIII**

G. Delgado, C. Friss de Kereki, 2008

En cada uno de los ejemplares examinados pescadilla de calada (*Cynoscion guatucupa*) y calamar (*Illex argentinus*) se cuantificó el número de parásitos encontrados y se identificaron los diferentes géneros hallados.

Se utilizaron como recomendación Bush y col.(1997), descriptores ecológicos del parasitismo:

- **Prevalencia:** número de hospedadores infectados con uno o más individuos de una particular especie parásita dividido por el número de hospedadores examinados.
- **Intensidad:** número total de individuos de una especie parásita en particular dividido el número de hospedadores parasitados.
- **Abundancia media:** número total de individuos de una especie parásita en particular dividido el número de hospedadores examinados.

Se compararon la Abundancia media e Intensidad de larvas de la familia Anisakidae presentes en pescadilla de calada (*Cynoscion guatucupa*) y calamar (*Illex argentinus*).

Se utilizaron gráficos sectoriales y tablas para representar los datos obtenidos.

## 7. RESULTADOS

### 1.1 LARVAS DE ANISÁKIDOS EN PESCADILLA (*Cynoscion guatucupa*).

De un total de 67 ejemplares de pescadilla (*Cynoscion guatucupa*) examinados por el método de examen visual se hallaron 24 ejemplares parasitados con larvas de nematodos anisákidos, lo que representa una prevalencia del 36%, una intensidad de infección de 9,4 y una abundancia media de 3,3. (Tabla II)

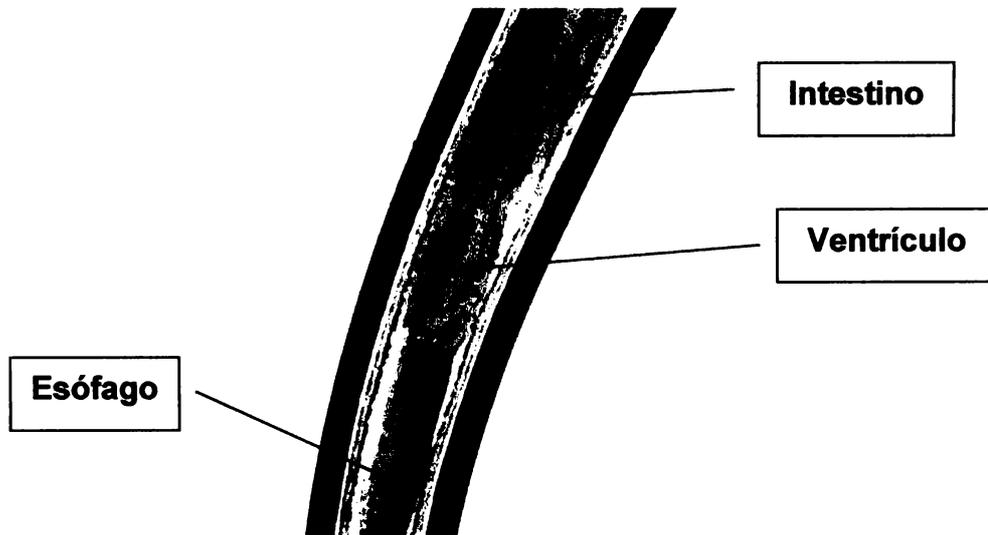
#### Descriptores ecológicos del Parasitismo en *Cynoscion guatucupa*

|                         |            |
|-------------------------|------------|
| <b>Prevalencia</b>      | <b>36%</b> |
| <b>Intensidad</b>       | <b>9,4</b> |
| <b>Abundancia media</b> | <b>3,3</b> |

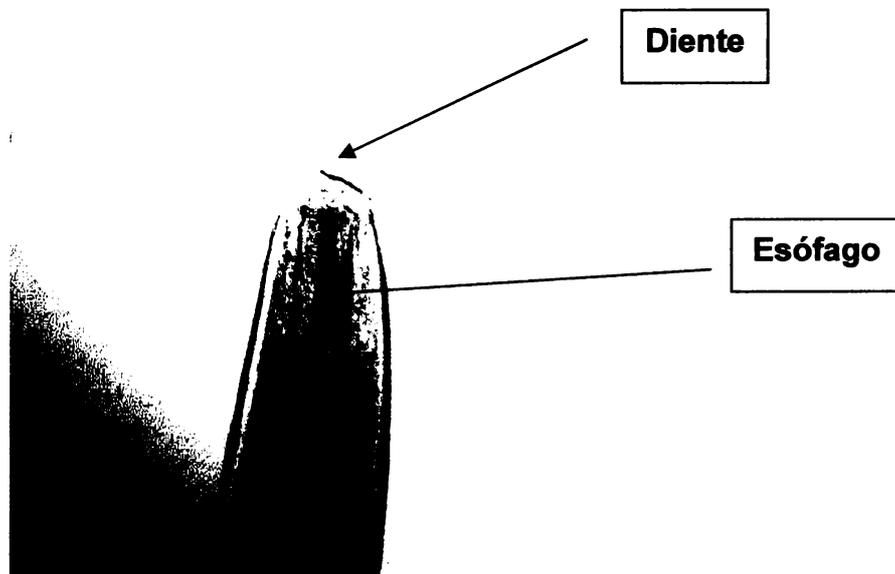
**Tabla II**

El rango de infección en pescadilla fue de 1 a 55 larvas de anisákidos.

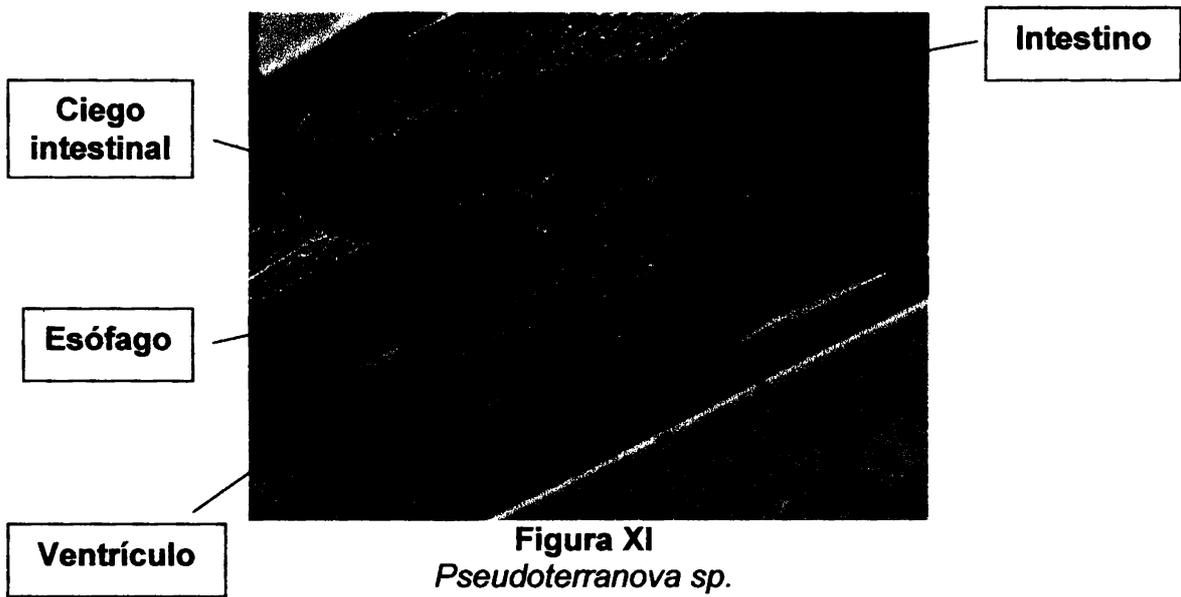
Las larvas de anisákidos halladas durante este período en pescadilla pertenecían a los géneros *Anisakis* (figura IX y X), *Pseudoterranova* (figura XI) y *Contracaecum* (figura XII).



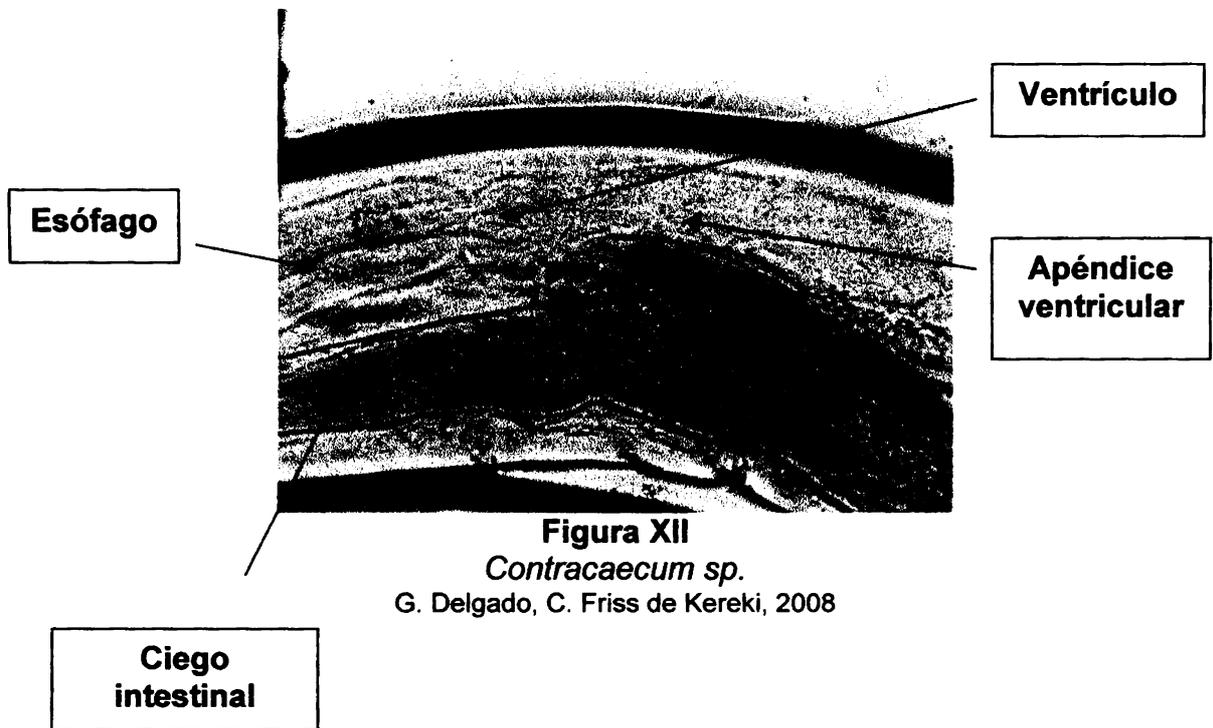
**Figura IX**  
*Anisakis sp.*  
G. Delgado, C. Friss de Kereki, 2008



**Figura X**  
*Anisakis sp.*  
G. Delgado, C. Friss de Kereki, 2008



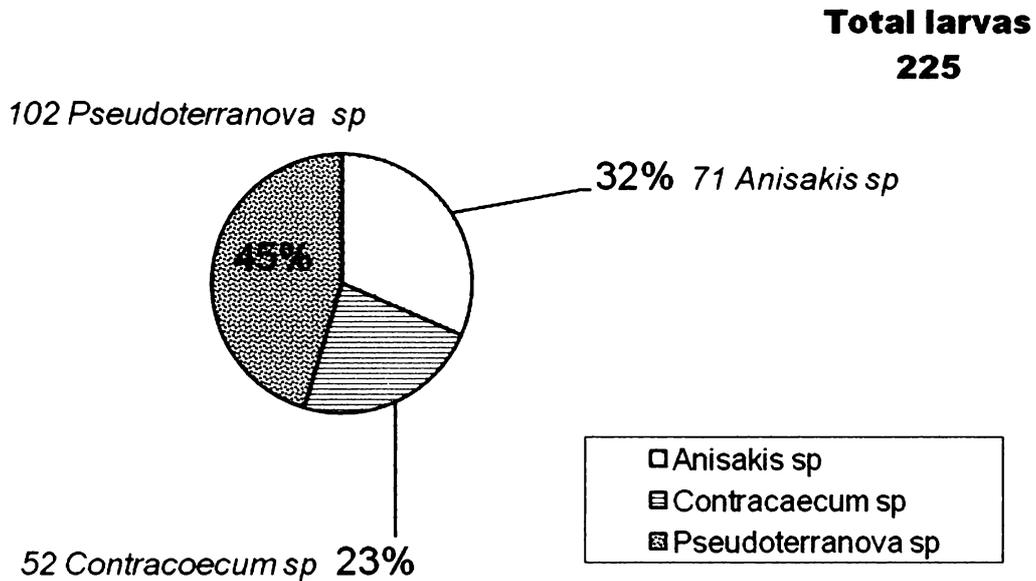
**Figura XI**  
*Pseudoterranova sp.*  
 G. Delgado, C. Friss de Kereki, 2008



**Figura XII**  
*Contraecaecum sp.*  
 G. Delgado, C. Friss de Kereki, 2008

Cómo puede verse en la gráfica I, de un total de 225 larvas el 45% de las larvas encontradas pertenecían al género *Pseudoterranova*, el 32% al género *Anisakis* y el 23% al género *Contracaecum*.

Géneros de anisákidos hallados en *Cynoscion guatucupa*



**Gráfica I**

En las 24 muestras positivas se recolectaron larvas de anisákidos localizadas anatómicamente en peritoneo visceral, hígado y gónadas. No fueron halladas larvas en tejido muscular.

Los anisákidos visualizados en el hígado (figura XIII) de las muestras de pescadilla se presentaron en la superficie, no en el parénquima, enrollados en espiral y generalmente, dejaban una huella en la superficie hepática por debajo de la cápsula, al extraerlas algunas presentaron motilidad.



**Figura XIII**

Larva en superficie de hígado de *Cynoscion guatucupa*  
G. Delgado, C. Friss de Kereki, 2008

Las larvas halladas en la cavidad abdominal (figura XIV) se presentaban libres y con motilidad en algunos casos.



**Figura XIV**  
Larvas en cavidad abdominal de *Cynoscion guatucupa*  
G. Delgado, C. Friss de Kereki, 2008

En la tabla III se puede observar por los datos obtenidos que la prevalencia es mayor para el género *Anisakis*, pero la intensidad y la abundancia son mayores para el género *Pseudoterranova*.

- N° total de pescadillas examinadas: 67
- N° total de pescadillas parasitadas: 24
- N° total de larvas: 225
- N° larvas de *Anisakis sp.* : 71
- N° larvas de *Pseudoterranova sp.* : 102
- N° larvas de *Contracaecum sp.* : 52
- 20 pescadillas con *Anisakis sp.*
- 19 pescadillas con *Pseudoterranova sp.*
- 15 pescadillas con *Contracaecum sp.*

Prevalencia, Intensidad y Abundancia de cada género encontrado en *Cynoscion guatucupa*

|                                   | <b>Prevalencia</b> | <b>Intensidad</b> | <b>Abundancia</b> |
|-----------------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| <b><i>Anisakis sp.</i></b>        | 29,9%              | 3,6               | 1,05              |
| <b><i>Pseudoterranova sp.</i></b> | 28,4%              | 5,4               | 1,5               |
| <b><i>Contracaecum sp.</i></b>    | 22,4%              | 3,5               | 0,8               |

**Tabla III**

Por los datos obtenidos en la tabla IV se puede deducir que a mayor talla aumenta la abundancia de larvas.

Prevalencia, Intensidad y Abundancia de larvas según talla en *Cynoscion quatuorcupa*

| Talla (cm)  | Nº Pescadillas | Prevalencia | Abundancia   | Intensidad    |
|-------------|----------------|-------------|--------------|---------------|
| 23,1 - 27,0 | 7              | 14,3%       | 0,86 ± 2,27  | 6             |
| 27,1 - 33,0 | 27             | 25,9%       | 1,41 ± 5,06  | 5,43 ± 9,25   |
| 33,1 - 37,0 | 18             | 44,4%       | 5,44 ± 12,90 | 12,25 ± 17,58 |
| 37,1 - 43,0 | 15             | 53,3%       | 5,53 ± 8,75  | 10,38 ± 9,78  |

**Tabla IV**

7.2 LARVAS DE ANISÁKIDOS EN CALAMAR (*Illex argentinus*)

De un total de 30 ejemplares de calamar (*Illex argentinus*) examinados por el método de examen visual se hallaron 8 ejemplares parasitados con larvas de nematodos anisákidos, lo que representa una prevalencia del 27%, una intensidad de infección de 1,5 y una abundancia media de 0,4. (Tabla V)

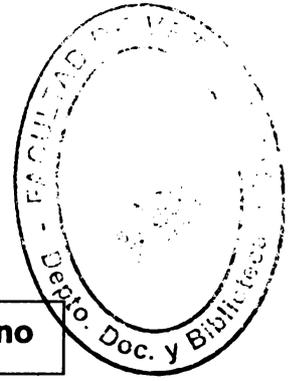
Descriptores ecológicos del Parasitismo en *Illex argentinus*

|                                |            |
|--------------------------------|------------|
| <b>Prevalencia</b>             | <b>27%</b> |
| <b>Intensidad de infección</b> | <b>1,5</b> |
| <b>Abundancia media</b>        | <b>0,4</b> |

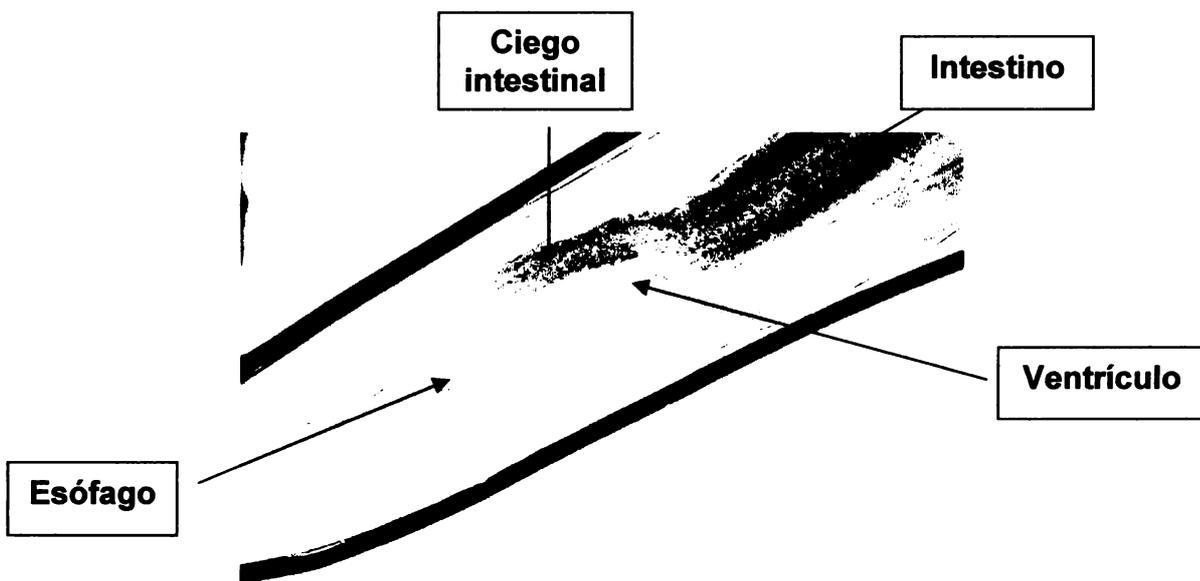
**Tabla V**

El rango de infección en calamar fue de 1 a 3 larvas de anisákidos.

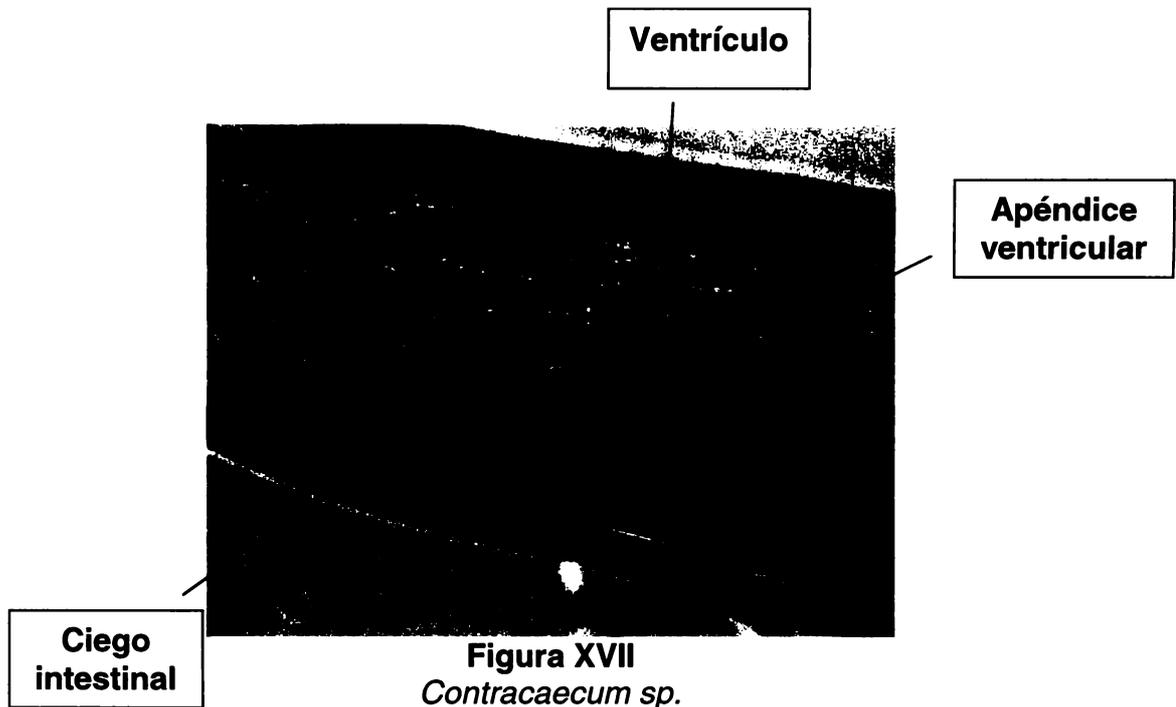
Las larvas de anisákidos halladas durante este período en calamar (*Illex argentinus*) pertenecían a los géneros *Anisakis* (figura XV), *Pseudoterranova* (figura XVI) y *Contraecum* (figura XVII).



**Figura XV**  
*Anisakis sp.*  
G. Delgado, C. Friss de Kereki, 2008

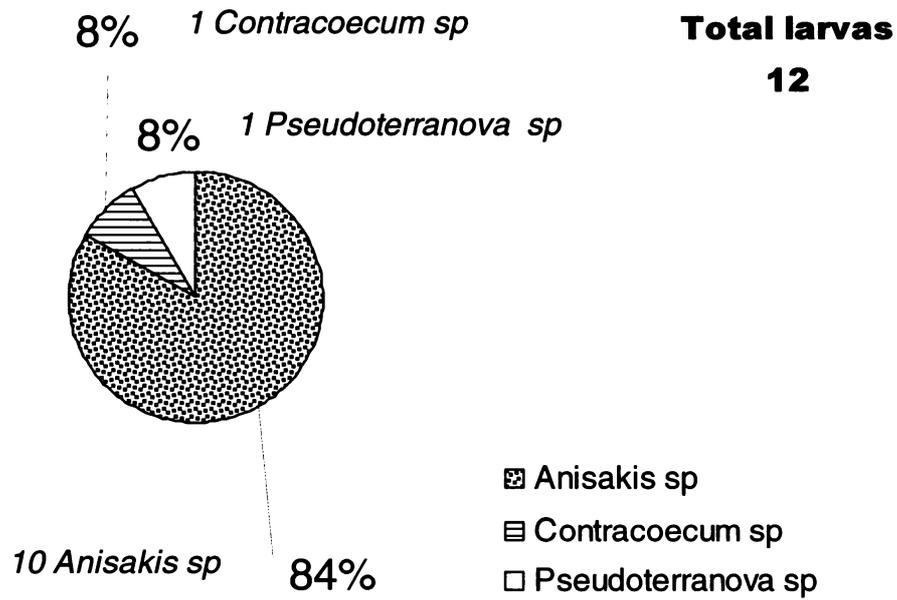


**Figura XVI**  
*Pseudoterranova sp.*  
G. Delgado, C. Friss de Kereki, 2008



Cómo puede verse en la gráfica II, de un total de 12 larvas de anisákidos identificados el 84% de las larvas encontradas pertenecían al género *Anisakis*, el 8% al género *Pseudoterranova* y el 8% al género *Contracaecum*.

Géneros de anisákidos hallados en *Illex argentinus*



**Gráfica II**

En las 8 muestras positivas se recolectaron la totalidad de las larvas de anisákidos localizadas anatómicamente adheridas a la superficie del estómago, encapsuladas y enrollados en espiral (figura XVIII).



**Figura XVIII**

Larva encapsulada en estómago de *Illex argentinus*

G. Delgado, C. Friss de Kereki, 2008

Al calcular las varianzas que resultaron ser altamente desiguales, se comparó a través del *Test* de t (de *Student*) la abundancia e intensidad de las larvas de la familia anisakidae entre pescadilla (*Cynoscion guatucupa*) y calamar (*Illex argentinus*), y se obtuvieron los siguientes datos:

a) Abundancia

- $t = 2,79$  (con 68 grados de libertad)
- $p < 0,01$

b) Intensidad

- $t = 3,09$  (con 24 grados de libertad)
- $p < 0,01$

Podemos interpretar con estos resultados que la abundancia y la intensidad de las larvas en pescadilla (*Cynoscion guatucupa*) es significativamente mayor que en calamar (*Illex argentinus*)

Según los datos representados en la tabla VI, se puede apreciar que la prevalencia, intensidad y abundancia son mayores para el género *Anisakis*.

- N° total de calamares examinadas: 30
- N° total de calamares parasitadas: 8
- N° total de larvas: 12
- N° larvas de *Anisakis sp.*: 10
- N° larvas de *Pseudoterranova sp.*: 1
- N° larvas de *Contracaecum sp* : 1
- 7 calamares con *Anisakis sp.*
- 1 calamar con *Pseudoterranova sp.*
- 1 calamar con *Contracaecum sp.*

Prevalencia, Intensidad y Abundancia de cada género encontrado en *Illex argentinus*

|                                   | <b>Prevalencia</b> | <b>Intensidad</b> | <b>Abundancia</b> |
|-----------------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| <b><i>Anisakis sp.</i></b>        | 23,3%              | 1,42              | 0,33              |
| <b><i>Pseudoterranova sp.</i></b> | 3,3%               | 1                 | 0,03              |
| <b><i>Contracaecum sp.</i></b>    | 3,33%              | 1                 | 0,03              |

**Tabla VI**

Cabe destacar que **92 larvas de nematodos** hallados en *Cynoscion guatucupa* e *Illex argentinus* no pudieron ser determinadas morfológicamente porque no fue posible visualizar las estructuras utilizadas para su determinación.

## 8. DISCUSIÓN

### 8.1 Descriptores Ecológicos

La prevalencia para *Anisakis sp.* en *Cynoscion guatucupa* fue la mayor hallada coincidiendo con algunos estudios regionales (Incorvaia, 2001; Herreras y col. , 2000), americanos (Castillo y col. , 1998), europeos (Valero y col. , 2006; Dambrosio y col. , 2005; Szostakowska y col. ,2005; Huang, 1988) y Asia (Ma, 1997).

Ninguna de estas investigaciones tienen como especie objetivo *Cynoscion guatucupa*, centran sus estudios principalmente en *Merluccius hubbsi*, la cual es una especie de altura mientras la que fue objeto de este estudio es costera por lo cual su hábitat es diferente. Esta especie fue seleccionada debido a su relevancia en el mercado interno ya que es ampliamente comercializada en estado fresco (sin congelar), lo que aumenta el riesgo de contraer anisakiasis si se consume cruda o poco cocida.

El único antecedente nacional donde se estudia la presencia de *Anisakis sp.* en *Cynoscion guatucupa* es el trabajo publicado por Botto y col. (1976), encontrando una prevalencia para *Anisakis sp.* del 6,3%, contrastando con el 29,9% hallado en este estudio. Es de destacar que Botto y col. (1976), comunican que 37,5% de las pescadillas (*Cynoscion guatucupa*) presentan larvas de nematodos que no fueron identificadas.

En cuanto a los géneros *Pseudoterranova* y *Contracaecum*, si bien sus prevalencias (28,4% y 22,4% respectivamente), se encontraron en valores similares a los de *Anisakis sp.* (29,9%), para *Pseudoterranova sp.* es mucho mayor que la encontrada por Herreras y col. (2000), de 9,5%. Éstos resultados estarían justificados según Myers, (1979) debido a que en el Océano Atlántico hay mayor población de pinnípedos que en el Océano Pacífico.

Por su parte Bandes y col. (2005), encontraron una prevalencia importante de *Pseudoterranova sp.* (56%) y *Contracaecum sp.* (48%) en mugílidos de Venezuela, y Barros y Webb (1998), hallan una prevalencia de *Contracaecum sp.* de 20,7% en pargos (*Lutjanus purpureus*), 48% en doradas (*Coryphaena hippurus*). Estos últimos autores encontraron una prevalencia baja para el género *Anisakis* de 2,4% y 1% respectivamente.

Knoff y col. (2001), encontraron una prevalencia importante de *Pseudoterranova sp.* (10-14%) en algunos peces elasmobranchios en el Estado de Río Grande do Sul.

Aunque la prevalencia (29,9%) fue mayor para el género *Anisakis*, la intensidad (5,4) y la abundancia (1,5) fueron mayores para el género *Pseudoterranova*.

En las muestras estudiadas no se determinó *Hysterothylacium sp.*, hay trabajos que determinan la presencia de este género en aguas del océano Atlántico Sudoccidental en peces y cefalópodos (Braicovich y col. 2006; Nigmatullin y Shukhálter, 1990).

## 8.2 Localización Anatómica de Larvas

En la bibliografía se cita que una de las localizaciones frecuentes de las larvas de anisákidos es el tejido muscular (Gago y col., 2006; García y col., 2005; Rello y col., 2004; Herrera y col., 2000; Ferré 2000; Cordero del Campillo y Rojo, 1999)

Sin embargo en este trabajo no se halló larvas con esa localización anatómica en los especímenes estudiados, esto es coincidente con los trabajos de Wharton y col. (1999) y Botto y Mañé (1976), los que señalan que no encontraron evidencias de la migración de larvas hacia el músculo *post mortem* refutando los hallazgos de Smith y Wootten (1975).

Las larvas en *pescadilla* se encontraron en este caso en peritoneo visceral, hígado y gónadas, y en el caso de *Illex argentinus* se encontraron todas las larvas en la superficie del estómago (encapsuladas). Al igual que los estudios de Nagasawa y Moravec (2002), encontraron larvas de anisákidos encapsuladas en estómago de otras especies de calamar del Océano pacífico Norte y Nigmatullin y Shukhálter (1990), hallaron la misma localización en *Illex argentinus* del Atlántico Sudoccidental.

## 8.3 Talla de *Cynoscion guatucupa* y Abundancia de larvas de Anisákidos

Si bien la prevalencia y la abundancia aumentan con la talla de *Cynosción guatucupa*, no es posible generalizar esto, solo con los datos de este estudio. Según Rello y col. (2004), la prevalencia de los parásitos tendría más relación con la especie de hospedador que con su tamaño.

## 9. CONCLUSIONES

Con la metodología utilizada se logró determinar larvas de *Anisakis sp.*, *Pseudoterranova sp.* y *Contracaecum sp.* en *Cynoscion guatucupa* e *Illex argentinus*.

La totalidad de las larvas determinadas en *Cynoscion guatucupa* se encontraban en peritoneo parietal, visceral, hígado y gónadas, en *Illex argentinus* se encontraban encapsuladas en la superficie de estómago, no habiéndose encontrado ninguna en músculo.

Se determinó una mayor prevalencia del género *Anisakis* en las dos especies estudiadas.

## 10. RECOMENDACIONES

Cabría utilizar a los fines de la investigación el método de digestión artificial, a pesar que éste no sea capaz de detectar la totalidad de las larvas. Esta actividad sería netamente académica debido que al no utilizarse de rutina en planta, no tendría repercusión práctica en la Salud Pública. Así mismo es importante realizar estudios orientados a confirmar o refutar la teoría de la migración *post mortem* de las larvas hacia el músculo.

Se debería continuar esta investigación por lo menos hasta completar un año calendario abarcando distintas estaciones del año, tallas, edades y sexos.

Este estudio evidencia la necesidad de seguir profundizando en el tema, en cefalópodos en especial calamar, por su importancia comercial para nuestro país, así como incluir otros productos de la pesca de interés comercial.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acha, P.; Szyfres, B. (2003) Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales. 3ª ed. Washington, Organización Panamericana de la Salud, vol 3 Parasitosis, pp.241-246.
2. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. (2006) Real Decreto que mejora la protección de los consumidores. Disponible en: [www.aesan.msc.es/AESAN/web/notas\\_prensa/protección\\_consumidores.shtml](http://www.aesan.msc.es/AESAN/web/notas_prensa/protección_consumidores.shtml) . Fecha de consulta: 13/11/2008.
3. Audicana, M. T.; Kennedy, M. W. (2008) *Anisakis simplex*: from Obscure Infectious word to Inducer of Immune Hypersensitivity. *Clin. Microbiol. Rev.*, 21 (2): 360-379.
4. Barriga, J.; Salazar, F.; Barriga, E. (1999) Anisakiasis: Presentación de un caso y revisión de la literatura. *Rev. Gastroenterol. Perú*, 19 (4): 317-323.
5. Barros, G.; Webb, J. (1998) Larvas infectantes de anisakídeos em peixes de elevado consumo, provenientes do litoral nordeste do Brasil. *Revista Higiene Alimentar, Sao Pablo*, 12 (58): 71-75.
6. Botto, C.; Osimani, J.; Mañé F. (1976) Sobre la presencia de larvas de *Anisakis sp.* en peces de la costa Atlántica Uruguaya y su patogenicidad experimental para el perro y el gato. *Revta. Urug. Patol. Clin. y Microbiol.*, 3(2): 49-62.
7. Bolado, A.; Gorriño, O.; Ruiz, P.; Lecumberri, I.; Grande, D. (2003) Anisakiasis intestinal. Diagnóstico radiológico. *Rev. Esp. Enferm. Dig.*, 95(6): 440-445.
8. Braicovich, P. E.; Timi, J. T.; Etchegoin, J. A. (2006) Determinación de unidades poblacionales de pez palo *Percophis brasiliensis* (Percophidae) mediante el uso de sus parásitos como indicadores biológicos. VI Jornadas Nacionales de Ciencias del Mar. Puerto Madryn, Argentina. Libro de resúmenes, p126.
9. Bush, A.; Lafferty, K.; Lotz, J.; Shostak, A. (1997) Parasitology meets ecology in its own term: Margolis et al. Revised. *J. Parasitol.*, 83(4): 575-583.
10. Castillo, E.; Rosales, J.; Pérez, G. (1998) Helmintos parásitos de *Paralichthys californicus* (Osteichthyes: Paralichthyidae) en el estero de Punta Banda, Bahía de Todos Santos y Bahía de San Quintín, Baja California, México. *Ciencias marinas*, 24(4): 443-462.

11. Cordero del Campillo, M.; Rojo, F. (1999) Parasitología Veterinaria. Madrid. Mc. Graw-Hill, Interamericana, pp. 901-907.
12. Dambrosio, A.; Normando, G.; Quaglian, N.; Lia, R.; Lorusso, V.; Laneve, A.; Celano, G.; Germinario, L. (2005) Microbiological quality and presence of *Anisakis spp.* in fresh fish marketed in Abulia Region. Ind. Alimentari., 44(452): 1105-1111.
13. España. Boletín Oficial del Estado. (2006) Real Decreto 1420/2006, de 1 de diciembre, sobre prevención de la parasitosis por *anisakis* en productos de la pesca suministrados por establecimientos que sirven comida a los consumidores finales o a colectividades. (302): 44547-44549.
14. España. Departamento de Salud. Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria. (2007) La eficacia de la congelación para la destrucción de nematodos en los productos de la pesca.  
Disponible en: [www.gencat.com](http://www.gencat.com) Fecha de consulta: 25/10/2008.
15. España. Ministerio de Sanidad y Consumo. (2005) Opinión del comité científico de la Agencia española de Sanidad y Alimentaria sobre una cuestión presentada por la Presidencia en relación con los factores favorecedores de la aparición de alergia a *anisakis*, así como de las medidas de prevención aplicables. Madrid, AESAN, 20pp.  
Disponible en:  
[www.aesan.msc.es/AESAN/web/cadena\\_alimentaria/detalle/anisakis.shtml](http://www.aesan.msc.es/AESAN/web/cadena_alimentaria/detalle/anisakis.shtml)  
Fecha de consulta: 13/01/08.
16. Ferre, I. (2001) Anisakiosis y otras zoonosis parasitarias transmitidas por consumo de pescado. Revista AquaTIC, 14(7): 1-21.
17. Food And Drug Administration. (2005) Anisakiasis simplex and related Works, Bad Bug Book.  
Disponible en: [www.cfsan.fda.gov](http://www.cfsan.fda.gov) Fecha de consulta: 6/07/08.
18. Gago, L.; García, E.; Fernández, J. L.; González, J. M. (2006) Métodos para la detección e inactivación de *Anisakis simplex* y patologías que producen. Informe de Vigilancia Tecnológica. Madrid, ADEPESCA, 55pp.
19. Hamann, M. (1999) Aspectos ecológicos de la relación parasitaria entre larva *Contracaecum sp.* (Nematoda, Anisakidae) y *Serrasalmus spilopleurakner*, 1860 (*Pises, Characidae*) en poblaciones naturales del nordeste argentino. Bol. chil. parasitol. 54(3-4): 74-82.

20. Herreras, V.; Aznar, J.; Balbuena, J.; Raga, J. (2000) Anisakid larvae in the musculatura of the argentinean hake, *Merluccius hubbsi*. Journal of Food Protection, 63(8): 141-1143.
21. Huang, W. (1988) Anisakids and human anisakiasis. Investigation of the anisakids of comercial fish in the district of Paris. Ann Parasitol Hum Comp, 63(3):197-208.
22. Huss, H. H. (1997) Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros. Roma. FAO. Documento Técnico N° 334, pp. 37-40.
23. Jay, J. M. (1994) Microbiología moderna de los alimentos. 3ª ed. Zaragoza, Acribia S.A., pp. 744-748.
24. Knoff, M.; Carmona de Sao Clemente, S.; Magalhaes, R.; Correa, D. (2001) Nematodos of elasmobranch fishes from the southern coast of Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, 96(1): 81-87.
25. Ma, H. W.; Jiang, T. J.; Quan, F. S.; Chen, X. G.; Wang, H.; Zhang, Y. S.; Cui, M. S.; Zhi, W. Y.; Jiang, D. C. (1997) The infection status of anisakid larvae in marine fish and cephalopods from the Bohai Sea, China and their taxonomical consideration. The Korean Journal of Parasitology, 35(1): 19-24.
26. Meyers, B. E. (1979) Anisakine nematodos in fresh comercial fish from waters along the Washington, Oregon and California Coasts. Journal of Food Protection, 42(5):44-48.
27. Nagasawa, K.; Moravec, F. (2001) Larval anisakid nematodos from four species of squid (Cephalopoda: Teuthoidea) from the central and western North Pacific Ocean. Journal of Natural History, 36: 883-891.
28. Nawa, Y.; Hatz, C.; Blue, J. (2005) Sushi delights and parasites: The risk of fishborne and foodborne parasitic zoonoses in Asia. Clinical Infectious Diseases, 41: 1297-1303.
29. Nigmatullin, Ch.; Shukhgálter, O. A. (1990) Helmintofauna y aspectos ecológicos de las relaciones parasitarias del calamar (*Illex argentinus*) en el Atlántico Sudoccidental. Comisión Técnica Mixta del Frente marítimo. Montevideo. Revista Frente Marítimo, 7: 57-68.

30. Pardo S.; Mejía, K.; Navarro, Y.; Atencio, V. (2007) Prevalencia y abundancia de *Contracaecum sp.* en *Rubio salminus affinis* en el Río Sinú y San Jorge: descripción morfológica. Rev. Med.Vet.Zoot. Córdoba 12(1): 887-896.
31. Pereira, A. D.; Atui, M. B.; Torres, D.; Mangini, A. C.; Zamboni, C. Q. (2000) Incidencia de parasitos da familia Anisakidae em bacalhau (*Gadus morhua*) comercializado no Estado de Sao Paulo. Revista Instituto Adolfo Lutz, 59(1/2):45-49.
32. Rello, F. J.; Adroher, F. J.; Valero, A. (2004) Anisákidos parásitos de peces comerciales. Riesgos asociados a la salud pública. Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental, 17(1): 173-197.
33. Rey, A. M.; Silvestre, A. (2005) Comer sin Riesgo 2. Las enfermedades transmitidas por alimentos. 2ª ed. Buenos Aires. Hemisferio Sur, pp.174-177.
34. Szostakowska, B.; Myjak, P.; Wyszynski, M.; Pietkiewicz, H.; Rockicki, J. (2005) Prevalence of Anisakin Nematodos in Fish from Southern Baltic Sea. Polish Journal of Microbiology, 54(1): 41-45.
35. USA. FDA. (2001) Fish and Fisheries products hazards and controls guidance. 3ª ed., US Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood, Washington DC.  
Disponible en: [www.cfsan.fda.gov/~comm/haccpsea.html](http://www.cfsan.fda.gov/~comm/haccpsea.html)  
Fecha de consulta: 3/10/08.
36. Wharton, D. A.; Hassall, M. L.; Alders, O. A. (1999) *Anisakis* (Nematoda) in some New Zealand inshore fish. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, 33: 643-648.
37. Zuloaga, J.; Arias, J.; Balibrea, J. L. (2004) Anisakiasis digestiva. Aspectos de interés para el cirujano. Cirugía Española 75(1): 9-13.