



Determinación de parásitos de la familia Anisakidae en filetes de pescado congelado
destinados a consumo humano

Patricia Betancourth Chaves
Médica Veterinaria

Directora
Juliana González Obando
Médica veterinaria, Magister en Epidemiología

Comité tutorial
Jorge Arturo Fernández Silva MV, MSP, Dr. med. vet.
Jairo Enrique Gómez Merchán MV, Msc

Programa de Posgrado en Ciencias Veterinarias
Maestría en Ciencias Veterinarias
Línea de epidemiología y salud pública veterinaria

Universidad de Antioquia
Facultad de Ciencias Agrarias
Medellín
2020



Agradecimientos

En primer lugar, quiero dar gracias a DIOS por permitirme vivir esta hermosa experiencia

A mis padres por ser las personas más incondicionales

A mi hermana Elizabeth quien me motivo me impulso y me ayudo a cumplir este proceso

A mi directora Juliana por su apoyo incondicional, sus consejos, por creer en mí

A mi asesor Jairo Gómez, por ser un maestro y un guía durante mi formación

A mi asesor Jorge Fernández. por darme su apoyo ayudarme y motivarme cada día

A los integrantes del grupo CENTAURO quienes aportaron con sus consejos en todo el proceso de formación.

A Darío Vallejo por brindarme su amistad, ayudarme y guiarme con sus conocimientos

A mis profesores, familiares y amigos y todos aquellos quienes me brindaron una palabra de ánimo durante toda mi maestría.

Lista de Abreviaturas

DA	Digestión artificial
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNr	Ácido desoxirribonucleico ribosomal
C	Corte sagital del extremo anterior
Ci	Ciego intestinal
DANE	Departamento Administrativo Nacional de Estadística
Di	Diente cuticular
dTTP	Nucleótidos trifosfato
E	Extremo de la cola
ECG	Electrocardiograma
Es	Esófago
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FDA	Food and Drug Administration
F°	Grados Fahrenheit
Haccp	Análisis de peligros y puntos críticos de control
IgE	Inmunoglobulina E
IgG	Inmunoglobulina G
IHC	Inmunohistoquímica
INVIMA	Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos
m	Mucrón
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
Pe	Poros excretor
SEPEC	Sistema de información del Servicio Estadístico Pesquero Colombiano
UE	Unión Europea
LUV	Luz ultravioleta
V	Ventrículo



Contenido

1	Resumen	9
	Summary	11
2	Introducción	13
3	Objetivos	15
3.1	Objetivo General	15
3.2	Objetivos Específicos.....	15
4	Pregunta de investigación.....	16
5	Marco teórico	17
5.1	Los peces como transmisores de ictiozoonosis parasitarias	17
5.2	Generalidades de los parásitos de la familia Anisakidae	18
5.2.1	Descripción general	18
5.3	Diferencias taxonómicas entre géneros de la familia Anisakidae.....	18
5.3.1	Género <i>Anisakis</i> spp.	18
5.3.2	Género <i>Contracaecum</i> sp.	19
5.3.3	Género <i>Pseudoterranova</i> sp	20
5.4	Ciclo de vida parásitos de la familia Anisakidae	21
5.5	Distribución general de los parásitos de la familia Anisakidae	22
5.6	Distribución de parásitos de la familia Anisakidae en Colombia	26
5.7	Enfermedad que produce los parásitos de la familia Anisakidae.....	28
5.7.1	Manifestaciones clínicas:.....	29
5.7.2	Tipo de alérgenos que produce los parásitos del genero <i>Anisakis</i> spp.	30
5.7.3	Reacción alérgica producida por parásitos del género <i>Anisakis</i> spp.	32
5.8	Comportamiento de casos de Anisakidiasis en el mundo (cronología)	33
5.9	Reportes de casos de Anisakidiasis en Colombia	34
5.10	Diagnóstico para detectar parásitos de la familia Anisakidae	35
5.11	Técnicas diagnosticas para la identificación de parásitos de la familia Anisakidae	36
5.11.1	Examen visual.....	36



5.11.2	Transiluminación o Candling.....	36
5.11.3	Detección por luz ultravioleta.....	37
5.11.4	Método de presión y fluorescencia	37
5.11.5	Digestión con pepsina	38
5.11.6	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	39
5.12	Prevención y control.....	40
5.12.1	Especies de peces susceptibles de contraer parásitos Anisakidos.....	40
5.12.2	Preparaciones con pescados que representan un potencial riesgo	41
5.12.3	Factores que favorecen la presencia de parásitos de la familia Anisakidae.....	41
5.12.4	Alternativas de prevención de Anisakidiasis	43
5.13	Normatividad mundial para control de larvas parasitarias la familia Anisakidae....	44
5.14	Normatividad Colombiana para el control de microorganismos en especies acuáticas.....	45
5.15	Cuál es el desafío en el control de parásitos como <i>Anisakis</i> spp.....	46
6	Metodología	47
6.1	Prueba piloto	47
6.2	Tipo de estudio y diseño metodológico	47
6.2.1	Criterios de inclusión y exclusión	48
6.2.2	Muestreo	48
6.3	Identificación de parásitos de la familia Anisakidae	51
6.4	Determinación de género	51
6.5	Análisis estadístico.....	52
6.5.1	Variables incluidas	52
7	Resultados	54
7.1	Análisis descriptivo.....	54
7.1.1	Proporción de filetes congelados de acuerdo a la procedencia (nacional o importada) 54	
7.1.2	Proporción de filetes congelados de acuerdo al lugar de procedencia (lugar específico).....	54
7.1.3	Proporción de filetes congelados de acuerdo al lugar de comercialización	55



Facultad de Ciencias Agrarias

7.1.4	Proporción de filetes congelados de acuerdo al tipo de pez evaluado.....	56
7.2	Resultados de acuerdo a los objetivos propuestos	56
7.2.1	Determinación de género.....	56
7.2.2	Determinación de Frecuencia de parásitos del género <i>Anisakis</i> spp.	58
7.2.3	Reconocimiento de Asociaciones entre la presencia de <i>Anisakis</i> spp. y las variables de estudio	58
8	Discusión	60
9	Conclusiones	63
10	Recomendaciones	64
11	Perspectivas de investigación	65
12	Referencias Bibliograficas.....	66
13	Anexos:.....	77

Lista de figuras

Figura 1. Taxonomía de las principales especies de parásitos de la familia Anisakidae	18
Figura 2. Características morfológicas de larvas L3 de <i>Anisakis simplex</i>	19
Figura 3 Características morfológicas de larvas L3 de <i>Contracaecum</i> sp.	20
Figura 4. Características morfológicas de larvas L3 de <i>Pseudoterranova</i> <i>decipiens</i>	21
Figura 5. Ciclo de vida parásitos de la familia Anisakidae	22
Figura 6. Distribución de especies de parásitos del genero <i>Anisakis</i> spp.....	24
Figura 7. Distribución de especies de Anisakidos en el mundo.	25
Figura 8. Distribución geográfica de diferentes géneros de la familia Anisakidae en Colombia	27
Figura 9. Lesiones gastrointestinales causadas por <i>Anisakis</i> spp.	30
Figura 10. Antígenos que produce <i>Anisakis</i> spp., se destacan los antígenos Anis 1,5,7 como los principales alérgenos que se pueden identificar en el ser humano	31
Figura 11. Lesiones que produce el complejo <i>Anisakis simplex</i>	32
Figura 12. Cifras de casos de Anisakidiasis en Colombia.....	35
Figura 13. Transiluminación	37
Figura 14. Observación de larvas de <i>Anisakis</i> spp., por el método de prensado y LUV.....	38
Figura 15. Georreferenciación lugares de muestreo realizado en Medellín y su área metropolitana.....	48
Figura 16. Porcentaje de muestras de filetes congelados de acuerdo a la procedencia (nacional o importada).....	54
Figura 17. Porcentaje de muestras de filetes de pescado congelados de acuerdo al lugar de procedencia (lugar específico).....	55
Figura 18. Porcentaje de muestras de filetes de pescado congelado de acuerdo al lugar de comercialización.....	55
Figura 19. Porcentaje de muestras de filetes de pescado congelado de acuerdo al tipo de pez evaluado.....	56
Figura 20. Microfotografías de larvas de <i>Anisakis</i> spp.	57



Lista de tablas

Tabla 1. Distribución de parásitos familia Anisakidae	25
Tabla 2. Presencia parásitos de la familia Anisakidae	26
Tabla 3. Casos de Anisakidiasis reportados hasta los años noventa desde su descubrimiento como enfermedad	34
Tabla 4. Pruebas diagnósticas para detectar la presencia parásitos de la familia Anisakidae ...	36
Tabla 5. Sensibilidad y especificidad de pruebas para identificación de <i>Anisakis</i> spp.	39
Tabla 6. Coeficiente Kappa entre las pruebas AD-UVP	39
Tabla 7. Preparaciones a nivel mundial con riesgo de transmitir <i>Anisakis</i> spp.....	41
Tabla 8. Principales normas para control de parásitos de la familia Anisakidae en el mundo.	44
Tabla 9. Proporción de muestras de filetes de pescado congelado teniendo en cuenta la cantidad de toneladas desembarcadas en Antioquia-Colombia	49
Tabla 10. Proporción de muestras de filetes de pescado congelado teniendo en cuenta el número de locales de cada plaza de mercado	49
Tabla 11. Asignación proporcional total de muestras de filetes de pescado de acuerdo a la especie y volumen de comercialización según cantidad de pescado desembarcado en Antioquia, Colombia	50
Tabla 12. Formato captura de datos.....	51
Tabla 13. Claves taxonómicas para identificación de parásitos de la familia Anisakidae.	52
Tabla 14. Variables analizadas en el estudio	52
Tabla 15. Resultados de presencia/ausencia de <i>Anisakis</i> spp.....	58
Tabla 16. Distribución de <i>Anisakis</i> spp.	59

1 Resumen

Introducción: La presencia de larvas de la familia Anisakidae en productos pesqueros destinados a consumo humano representa el mayor riesgo para desarrollar anisakidiasis, una de las ictiozoonosis más prevalentes en la población humana, su contagio es influenciado por consumo de preparaciones a base de pescado crudo o poco cocido, actualmente los tipos de pez que son utilizados por su sabor y características nutritivas está representado por *Scomberomorus* spp. (Sierra), *Salmo salar* (Salmón), *Thunnus* spp. (Atún), *Merluccius merlusus* (merluza), especies que resultan de gran impacto teniendo en cuenta el potencial riesgo que generan al consumirse crudas en presencia del parásito, ya que la sintomatología que pueden ocasionar puede cursar con cuadros digestivos severos (diarrea, vómito, dolor abdominal agudo, obstrucción intestinal) y procesos alérgicos que son relevantes en el campo de la salud pública. De esta manera las especies anteriormente mencionadas fueron las utilizadas estudiadas en la presente investigación, debido a la escasa información que se tiene sobre la ausencia o presencia del parásito en productos comercializados congelados en Colombia.

Objetivo: Analizar muestras de filetes de pescado crudo congelado comercializados en Medellín y su área metropolitana, en búsqueda de larvas de parásitos de la familia Anisakidae.

Materiales y métodos: En este estudio observacional, se investigó la presencia de larvas de la familia Anisakidae en filetes de pescado congelado de tres mercados representativos para Medellín y su área metropolitana. En total fueron analizados 384 filetes congelados listos para el consumo (197 sierras, 137 salmones, 37 atunes y 13 Merluzas). Cada filete fue analizado a partir del método de prensado y luz UV 366nm. Los parásitos recolectados fueron identificados según género por medio de microscopía simple y microscopía electrónica, respectivamente.

Resultados: Se encontraron cuatro larvas en cuatro filetes de sierra del total de 384 filetes, lo que representa una frecuencia de 1.04%, (CI 95%: 0.98-1.98%), la especie donde se encontró el hallazgo fue la sierra (*Scomberomorus* spp), el género se clasificó como *Anisakis* spp., no se encontró asociación entre las variables analizadas.

Conclusiones: El presente estudio es el primero en desarrollarse en el departamento de Antioquia Colombia en filetes de pescado congelados listos para consumo humano, encontrando positividad en sus hallazgos. Con una frecuencia del 1.04%, las especies que están circulando son



larvas pertenecientes al género *Anisakis* spp., representando el mayor peligro para los consumidores teniendo en cuenta la severidad de los síntomas causados, Se determinó que el filete de pescado congelado puede portar larvas y ser un riesgo para la salud pública. Además, se considera que la sierra (*Scomberomorus* spp) que proviene del puerto de Buenaventura y se comercializa congelada en Medellín y su área metropolitana, podría llegar a suponer un potencial riesgo zoonótico.

Palabras claves: Anisakidae, Emergente, Parásito, Peces, Riesgo, Zoonosis

Summary

Introduction: The presence of larvae of the Anisakidae family in fishery products intended for human consumption represents the greatest risk for developing anisakidiasis, one of the most prevalent ichthyozoonoses in the human population, its contagion is influenced by consumption of preparations based on raw fish or undercooked, currently the types of fish that are used for their taste and nutritional characteristics are represented by *Scomberomorus* spp (Sierra), *Salmo salar* (Salmon), *Thunnus* spp (Tuna), *Merluccius merlusus* (hake), species that are of great impact taking into account the potential risk they generate when consumed raw in the presence of the parasite, since the symptoms that they can cause can lead to severe digestive conditions (diarrhea, vomiting, acute abdominal pain, intestinal obstruction) and allergic processes that are relevant in the field of public health. In this way, the aforementioned species were the ones studied in this research, due to the scarce information that is available on the absence or presence of the parasite in products sold frozen in Colombia.

Objective: To analyze samples of frozen raw fish fillets marketed in Medellín and its metropolitan area, in search of larvae of parasites of the Anisakidae family.

Materials and methods: In this observational study, the presence of larvae of the Anisakidae family was investigated in frozen fish fillets from three representative markets for Medellín and its metropolitan area. In total 384 ready-to-eat frozen fillets were analyzed (197 mountains, 137 salmon, 37 tuna and 13 Hake). Each fillet was analyzed using the 366nm UV light and pressing method. The collected parasites were identified by gender by means of simple microscopy and electron microscopy, respectively.

Results: Four larvae were found in four saw fillets of the total of 384 fillets, which represents a frequency of 1.04%, (95% CI: 0.98-1.98%), the species where the finding was found was the saw (*Scomberomorus* spp), the genus of the larvae was determined as *Anisakis* spp. No association was found between the variables analyzed.

Conclusions: This study is the first to be carried out in the department of Antioquia Colombia in frozen fish fillets ready for human consumption, finding positivity in its findings. With a frequency of 1.04%, the species that are circulating are larvae belonging to the genus *Anisakis* spp, representing the greatest danger to consumers taking into account the severity of the symptoms



caused. It was determined that frozen fish fillet can carry larvae and be a risk to public health. Furthermore, it is considered that the sierra (*Scomberomorus* spp) that comes from the port of Buenaventura and is sold frozen in Medellín and its metropolitan area, could pose a potential zoonotic risk.

Keywords: Anisakidae, Emergent, Parasite, Fish, Risk, Zoonoses

2 Introducción

La anisakidiasis es una enfermedad parasitaria ictiozoonótica emergente de distribución mundial, causada por un nematodo del género *Anisakis* spp., esta parasitosis es transmitida por el consumo de pescados en preparaciones crudas o poco cocida (Cabrera & Trillo. 2004). Los principales géneros de la familia Anisakidae que tienen importancia en salud pública son *Anisakis simplex*, *A. Pseudoterranova decipiens* y *A. Contracaecum Osculatum* (González *et al.*, 2005). Estos géneros se consideran de gran impacto debido a su aguda sintomatología y a la reacción alérgica que produce en el caso del complejo *A.Simplex*, (Pardo, 2016). La enfermedad tiene características particulares dependiendo de la especie de *Anisakis* spp., que la causa (Anderson, 2006). Sin embargo *A. Simplex* en su fase larval L3 es el principal causante de la sintomatología gastrointestinal y alérgica en humanos (Aibinu, & Lopata. 2019).

Esta parasitosis ha sido bien caracterizada en países como Perú, Chile, Argentina, España, Italia y Japón (Quijada &, Avdalov. 2005) los cuales contribuyen a la presencia de más de 20.000 casos anuales reportados en el mundo, cifras que probablemente tengan un sub registro (Castellanos *et al.*, 2020) teniendo en cuenta que se han realizado estudios en personas que han presentado antígenos y nunca desarrollaron sintomatología (López *et al.*, 2000).

Colombia cuenta con un solo reporte de anisakidiasis en humanos notificado al Instituto Nacional de salud (Patiño *et al.*, 2019). Sin embargo, estudios no publicados han informado que en Bogotá D.C. se ha determinado una casuística de casos de 4.69 casos/1,000,000 personas, Cundinamarca 10.33 casos/1,000,000 personas, Guaviare 19,08 casos / 1.000.000, Caquetá (17,63 casos / 1.000.000) (Rodríguez. 2016).

A pesar de contar con datos que demuestran que la enfermedad está presente en el país no existe un sistema de vigilancia epidemiológica para el diagnóstico y control de la enfermedad (Patiño & Olivera. 2019) esto dificulta su seguimiento ya que la mayoría de sus síntomas son inespecíficos reportándose así como una intoxicación alimentaria que cursa con diarrea, vómito, dolor abdominal, obstrucción intestinal (Rodríguez, 2016). Sumado a esto *Anisakis* spp., puede ocasionar también síntomas alérgicos, que pueden poner en riesgo la vida del paciente al generar un shock anafiláctico ocasionándole dificultad respiratoria (Zubeldia *et al.*, 2012) .



Por otro lado, Colombia ha incrementado en la última década el consumo de preparaciones influenciadas por la cocina oriental debido a las propiedades nutritivas que posee el pescado, además que este tipo de preparaciones son consideradas dentro del menú de comidas rápidas, lo cual le permite el acceso a la mayoría de la población colombiana (Restrepo *et al.*, 2016).

Los géneros de los parásitos de la familia Anisakidae que se han reportado en Colombia superan las frecuencias del 90% en animales estudiados en aguas dulces y saladas (Olivero *et al.*, 2008). Las investigaciones más recientes han reportado la presencia del parásito en zonas costeras del pacífico colombiano y de la frontera con Ecuador en porcentajes entre el 18 y el 100% de las especies estudiadas (Castellanos *et al.*, 2018). Lo anterior permite suponer que la población se podría estar exponiendo al parásito cuando consume preparaciones a base de pescado crudo.



3 Objetivos

3.1 Objetivo General

- Determinar la presencia de parásitos de la familia Anisakidae en filetes de pescado congelado destinados a consumo humano.

3.2 Objetivos Específicos

- Identificar el género de las estructuras parasitarias obtenidas del filete de pescado congelado destinados a consumo humano.
- Determinar la frecuencia de los parásitos de la familia Anisakidae encontrados en los filetes de pescado congelado destinados a consumo humano.
- Reconocer asociaciones entre la presencia de Anisakidos con respecto al lugar de procedencia, lugar de comercialización y tipo de pez de estudio.



4 Pregunta de investigación

¿Existen parásitos de la familia Anisakidae en filetes de pescado congelado, comercializados en Medellín y su área metropolitana?



5 Marco teórico

5.1 Los peces como transmisores de ictiozoonosis parasitarias

Las ictiozoonosis son las enfermedades transmitidas al ser humano por bacterias, virus y parásitos, a través del consumo de pescado, productos pesqueros y productos de la acuicultura (Quijada *et.al.*,2005).

Existe una amplia variedad de parásitos que pueden infectar al pescado, pero solo un número relativamente reducido puede causar enfermedad al ser humano. Todos estos parásitos están asociados a factores socioculturales y comportamentales que posibilitan la infección, especialmente el hábito de comer pescado crudo, como el cebiche y el sushi, o pescado insuficientemente cocido (Quijada *et.al.*,2005; Tokiwa *et al.*, 2018).

Estas Ictiozoonosis parasitarias en América latina aún son eventos desatendidos, enfermedades como la Anisakiasis y gnathostomiasis, son a la fecha las más reconocidas. Sin embargo, todos los países del sur reportan la presencia de diferentes parásitos de origen íctico que ocasionan problemas de salud en el ser humano (Figura 1) (Quijada, *et al.*, 2005; Tokiwa *et al.*, 2018). Al igual que en otras zoonosis, a pesar de la morbilidad que pueden producir en el ser humano, no son objeto de vigilancia epidemiológica y resulta por ende difícil su control en salud pública. Reportes en Colombia han evidenciado una mayor presentación de Anisakiasis y posiblemente de otras enfermedades de origen íctico de las esperadas en el país, lo que prende las alarmas para realizar seguimiento a casos compatibles con estas enfermedades (Rodriguez, 2016).

5.2 Generalidades de los parásitos de la familia Anisakidae

5.2.1 Descripción general

Estos gusanos nematodos de las familias *Anisakidae* y *Raphidascarididae*, son parásitos cosmopolitas de mamíferos marinos y aves que comen peces. Las especies zoonóticas más importantes son aquellos que pertenecen a los géneros *Anisakis* (*A. simplex* s.s. y *A. pegreffii*) y *Pseudoterranova* (*P. decipiens*) (Figura 1) (Pozio, 2013).

5.2.1.1 Taxonomía de parásitos de la Familia Anisakidae

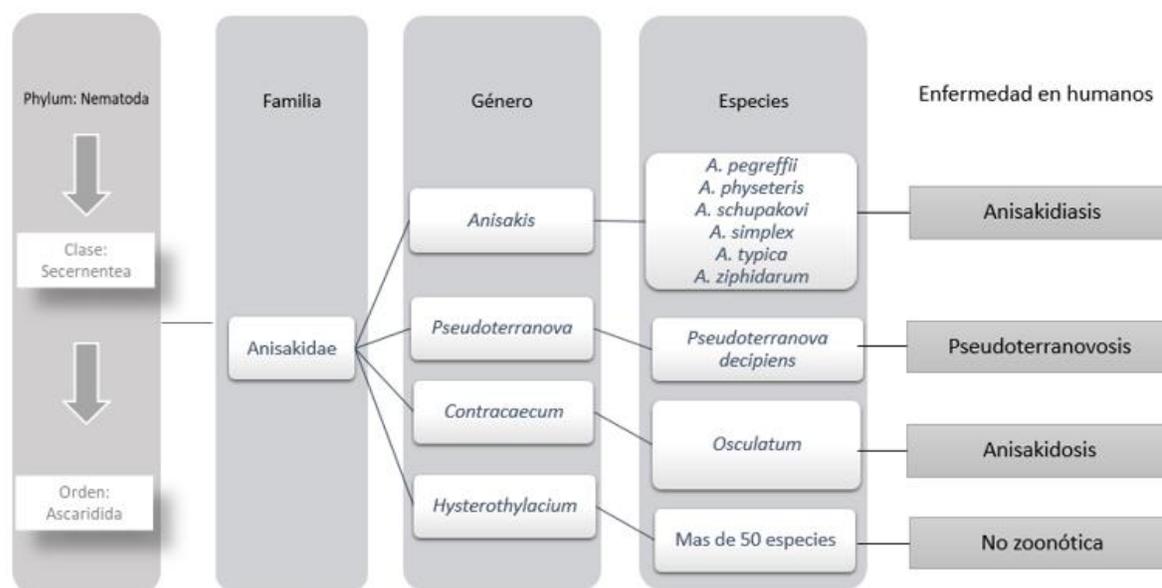


Figura 1. Taxonomía de las principales especies de parásitos de la familia Anisakidae (autoría propia)

5.3 Diferencias taxonómicas entre géneros de la familia Anisakidae

5.3.1 Género *Anisakis* spp.

Anisakis spp., es un parásito nematodo de unos 20-30 mm cuyas larvas se alojan en múltiples especies marinas siendo el hombre un huésped accidental (Villafruela & Henríquez 2010). En la actualidad el género *Anisakis* posee nueve especies clasificables así: *A. pegreffii*; *A. simplex* s.s.; *A. Simplex* C; *A. typica*; *A. ziphidarum*; *Anisakis* sp.; *A. physeteris*; *A. brevispiculata* y *A. paggiae* (Mattiucci *et al.*, 2018). Entre estos el más común en peces es *A. simplex* s.s. El estadio tercero de

la larva de esta especie generalmente referenciada como *Anisakis* tipo I, es caracterizada morfológicamente por un ventrículo largo con la unión ventrículo-intestinal oblicua y una cola redondeada, corta y con una espina terminal. Por su parte, *A. physeteris*, descrita en un principio como larva *Anisakis* tipo II, tiene el ventrículo corto con una unión horizontal al intestino y posee una cola larga, puntiaguda y sin apéndice terminal (Figura 2)(Anderson, 2000).

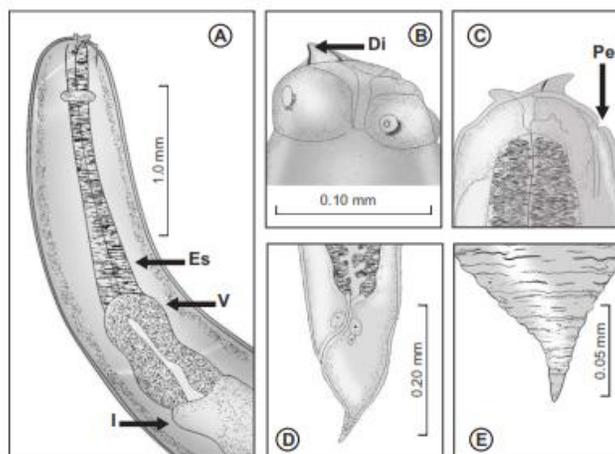


Figura 2. Características morfológicas de larvas L3 de *Anisakis simplex*

(Hurst, 1999; Berland, 1989; Hurst, 1984).

A Parte anterior (lateral).(Es, esófago; V, ventrículo;I, intestino).B) Vista lateral del extremo anterior. (Di, diente cuticular). C) Corte sagital del extremo anterior. (Pe, poro excretor). D) Parte posterior(lateral). E) Extremo de la cola.

5.3.2 Género *Contracaecum* sp.

Por lo general la larva mide entre 4 y 16 mm, aunque especies encontradas en peces de la bahía de Cartagena pueden llegar a medir 32mm (Olivero *et al.*, 2008) En el extremo anterior son observados tres labios, un diente cuticular cónico y ligeramente romo. El poro excretor abre inmediatamente posterior al diente. En el tubo digestivo pueden destacarse: el ventrículo pequeño y esférico, el apéndice ventricular posterior, el intestino que expone un ciego anterior más pequeño que el apéndice ventricular, dependiendo esta morfología de la especie (Olivero *et al.*, 2008). El extremo posterior es cónico, la cola post-anal larga y no presenta espina terminal. La cutícula de esta larva es gruesa con las estriaciones transversales muy marcadas (Figura 3) (Berland. 1989;

Anderson, 2000). Las larvas de este género representan un riesgo zoonótico potencial a provocar enfermedad con cuadros digestivos en humanos, a diferencia de la especie *Anisakis simplex* que genera cuadros alérgicos severos (Pinheiro *et al.*, 2019).

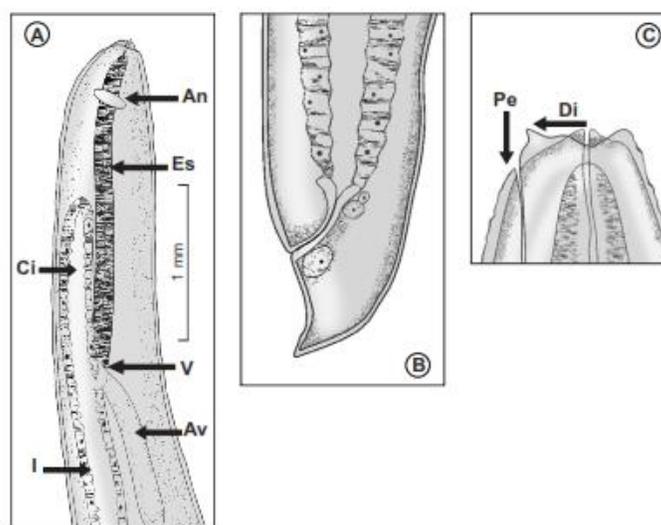


Figura 3 Características morfológicas de larvas L3 de *Contracaecum sp.* (Hurst, 1999; Moravec, 1997; Berland, 1989).

A) Parte anterior (lateral) (An, anillo nervioso; Es, esófago; Ci, ciego intestinal; V, ventrículo; Av, apéndice ventricular; I, intestino). B) Vista lateral del extremo anterior. C) Corte lateral del extremo anterior. (Di, Diente cuticular; Pe, poro excretor).

5.3.3 Género *Pseudoterranova sp*

La identificación de larvas de esta especie es sencilla gracias a su gran tamaño, color rojizo y a la presencia del ciego intestinal. Este último aparece bien desarrollado, extendiéndose hacia el extremo anterior, sobrepasando el margen anterior del ventrículo y es reconocido por la ausencia de apéndice esofágico. Presenta una cola post-anal corta y cónica con una espina terminal fina. La cutícula, a lo largo de todo el cuerpo, está finamente estriada por lo que muestra una apariencia lisa (Olivero *et al.*, 2008). El extremo anterior tiene un diente pequeño y triangular dirigido hacia afuera. El poro excretor aparece situado justo en posición ventral al diente (Figura 4). (Berland, 1989; Anderson, 2000).

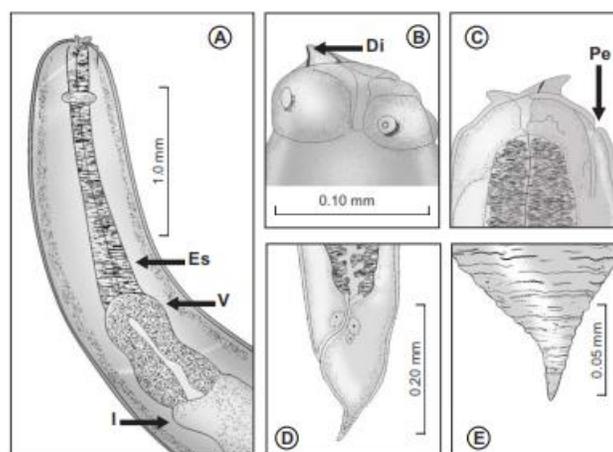


Figura 4. Características morfológicas de larvas L3 de *Pseudoterranova decipiens* (Hurst, 1999; Berland, 1989).

Parte anterior (lateral) (Es, esófago; V, ventrículo; Ci, ciego intestinal). B) Vista lateral del extremo anterior (Di, diente cuticular). C) Corte sagital del extremo anterior (Pe, poro excretor). D) Parte posterior (lateral) E) Extremo de la cola.

5.4 Ciclo de vida parásitos de la familia Anisakidae

El ciclo de vida de los parásitos de la familia Anisakidae, incluye huéspedes humanos accidentales. Los parásitos adultos viven en el estómago de los mamíferos marinos y, después de la cópula, los huevos fertilizados, pero no embrionados se expulsan con las heces. Los huevos se desarrollan y luego eclosionan, liberando *Anisakis* L3 de vida libre. Estos L3 son ingeridos por copépodos (huéspedes intermedios). Los peces de mar y los cefalópodos (huéspedes paraténicos) ingieren crustáceos planctónicos u otros peces y cefalópodos infectados con L3, lo que contribuye a la diseminación del parásito (Figura 5). La L3 infecciosa (incrustada en las vísceras y músculo o libre en la cavidad del cuerpo) se transfiere a los huéspedes finales (mamíferos marinos) mediante la ingestión de peces marinos y cefalópodos (en el caso de delfines, marsopas, focas, leones marinos y morsas) (Audicana & Kennedy 2008). En el huésped final, se producen dos mudas (de L3 a un adulto) antes de la madurez sexual para producir huevos, y se inicia un ciclo de vida adicional. Si los humanos comen pescado crudo o cefalópodos infectados con L3, las larvas presentes en la carne producen una infección zoonótica (Audicana & Kennedy 2008).

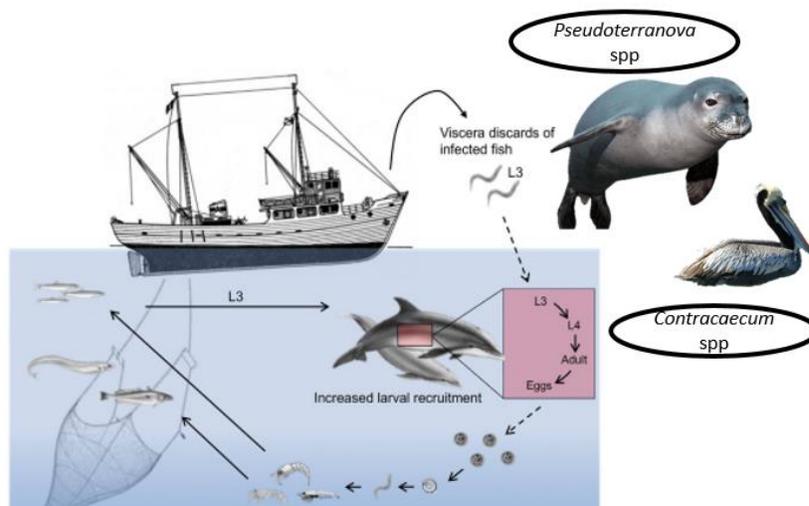


Figura 5. Ciclo de vida parásitos de la familia Anisakidae (Mattiucci *et al.*, 2018, Iglesias *et al.*, 2015,

Pozio, 2013),

En la figura observamos que de acuerdo al género se encuentra el hospedador definitivo, para el género *Anisakis* spp., los cetáceos, para el Genero *Pseudoterranova* sp., los pinnípedos, y para el género *Contracaecum* sp., las aves piscívoras.

5.5 Distribución general de los parásitos de la familia Anisakidae

La distribución geográfica de estas especies es muy difícil de determinar. Sin embargo, los estudios en áreas de pesca seleccionadas permiten identificar dónde se encuentran las especies de parásitos con mayor frecuencia y dónde se notificaron con mayor frecuencia hospedadores definitivos (Figura 6) (Mattiucci *et al.*, 2018; Bilaska *et al.*, 2015)

La especie más extendida del género *Anisakis* es *Anisakis simplex* s.s. El parásito se encuentra principalmente en las aguas del norte del Océano Atlántico y Océano Pacífico. Los hospedadores definitivos más frecuentes son las ballenas, delfines comunes, ballenas piloto, delfín picudo blanco, orcas y delfín rayado (Mattiucci *et al.*, 2018; Bilaska *et al.*, 2015).

Anisakis simplex C se encuentra en las aguas australes del océano Atlántico y norte del océano Pacífico. Esta especie se encontraba habitualmente en la Falsa orca y en el Zifio de Cuvier (Mattiucci *et al.*, 2018; Bilaska *et al.*, 2015).



Anisakis ziphidarum se encontró principalmente en el mar Mediterráneo y en las aguas del sur del océano Atlántico similar a *Anisakis pegreffii*. Los hospedadores definitivos más comunes son el zifio real, la ballena dentada (Mattiucci *et al.*, 2018; Bilska *et al.*, 2015).

Anisakis sp. es una especie que solo se ha detectado en la costa de Madeira y España. Sólo se encontró en el zifio de Blainville (Mattiucci *et al.*, 2018; Bilska *et al.*, 2015).

Anisakis typica es una especie que se encuentra en las cálidas aguas del Océano Atlántico (Mattiucci *et al.*, 2018; Bilska *et al.*, 2015).

Anisakis physeteris, como *Anisakis pegreffii* y *Anisakis ziphidarum*, se encuentra en el Mar Mediterráneo y el Océano Atlántico (Mattiucci *et al.*, 2018; Bilska *et al.*, 2015).

Anisakis brevispiculata también se encuentra en el mar Mediterráneo y las aguas del océano Atlántico central. Los hospedadores definitivos son los mismos que en el caso de *Anisakis physeteris* (Mattiucci *et al.*, 2018; Bilska *et al.*, 2015).

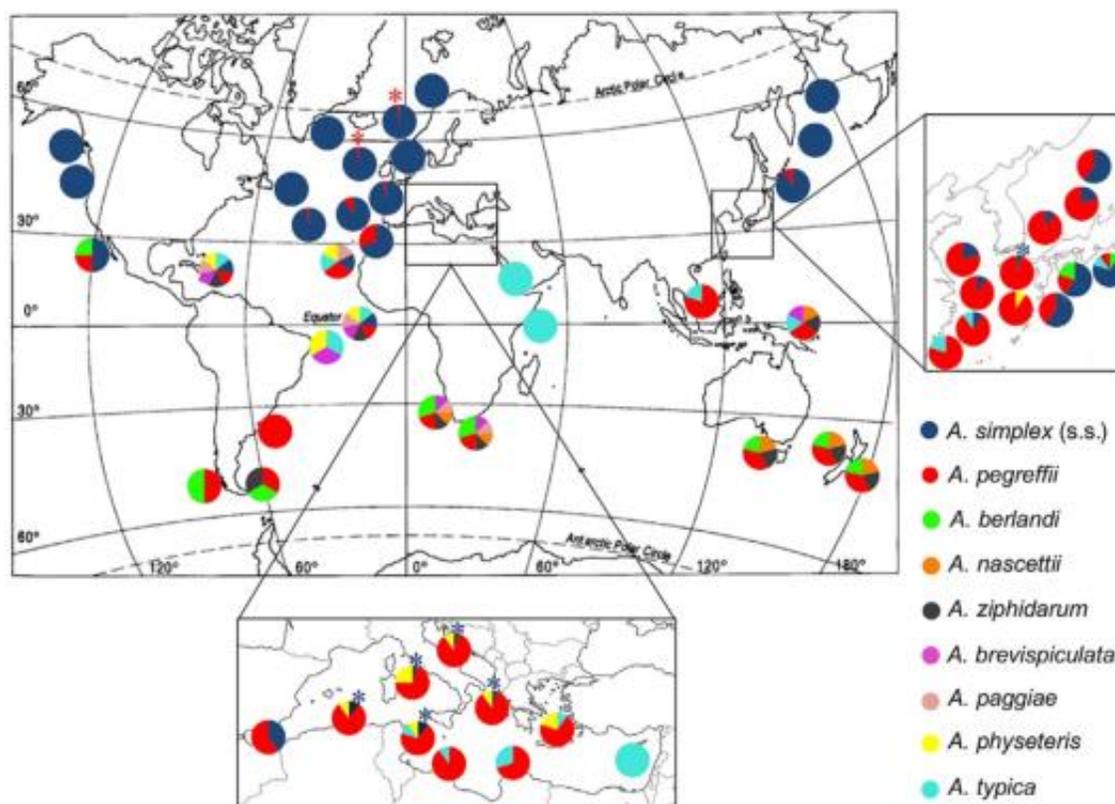


Figura 6. Distribución de especies de parásitos del genero *Anisakis* spp.

En la gráfica se observa que de acuerdo a la distribución de las especies *Anisakis Pegreffii* se encuentra en mayor frecuencia en los países que rodean el mar mediterráneo y sur América, *Anisakis simplex* en el océano pacífico y atlántico (Mattiucci *et al.*, 2018)

La especie *Pseudoterranova* es considerada una especie cosmopolita (Figura 7), puede infectar a múltiples hospedadores acuáticos principalmente las focas, los hospedadores intermedios más llamativos para esta especie son los crustáceos, como los copépodos, anfípodos, camarones e isópodos, su principal especie de interés en salud pública es *P. decipiens*, llegando a provocar serios problemas digestivos en los humanos que parasita (Palm, 1999).

Los parásitos de la especie *Contracaecum* tienen un rol zoonótico discutido y su presencia en humanos es sumamente casual, este es una especie en la cual los hospedadores definitivos son aves ictiófagas, lo que le confiere una distribución más amplia debido a la movilidad de las aves por los diferentes continentes (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución de parásitos familia Anisakidae (Buchmann & Mehrdana 2016)

País	<i>Anisakis</i> spp	<i>Pseudoterranova</i>	<i>Contracaecum</i>	Referencias
Australia	–	–	+	Shamsi and Butcher, 2011
Canadá	+	–	–	Couture <i>et al.</i> , 2003
Chile	–	+	–	Mercado <i>et al.</i> , 2001; Torres
Croacia	+	–	–	Mladineo <i>et al.</i> , 2014
Dinamarca	+	–	–	Andreassen and Jørring,
Francia	+	–	–	Bourree <i>et al.</i> , 1995
Alemania	+	–	+	Schaum and Müller, 1967;
Holanda	+	–	–	Van Thiel <i>et al.</i> , 1960
Islandia	–	+	–	Skirnisson, 2006
Italia	+	–	–	Fumarola <i>et al.</i> , 2009
Japón	+	+	+	Kagei and Isogaki, 1992;
Corea	+	+		Yu <i>et al.</i> , 2001; Choi <i>et al.</i> ,
Suiza	+	–	–	Lin <i>et al.</i> , 2014
España	+	–	–	Repiso <i>et al.</i> , 2003; Puente et
Sur África	+	–	–	Nieuwenhuizen et al., 2006
Taiwan	+	–	–	Li <i>et al.</i> , 2015
USA	+	+	–	Pinkus <i>et al.</i> , 1975; Amin et
Argentina	+	+	+	Deguese 2015
Colombia	+	+	+	Catellanos <i>et al.</i> , 2018, Olivero <i>et al.</i> , 2008
Peru	+	+	+	Deguese 2015

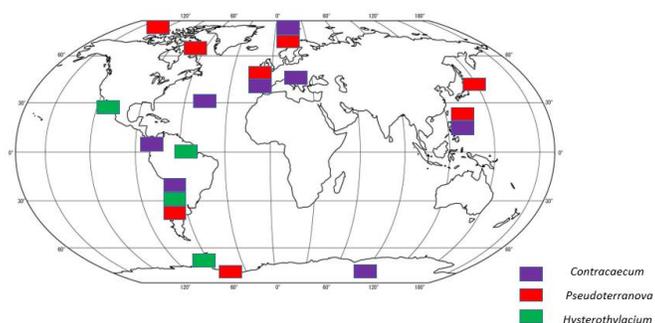


Figura 7. Distribución de especies de Anisakidos en el mundo (Degese, 2015).

En la figura podemos observar que los parásitos de la familia Anisakidae están distribuidos ampliamente por todo el mundo

5.6 Distribución de parásitos de la familia Anisakidae en Colombia

En Colombia se han realizado estudios que demuestran la presencia del parásito en las costas atlántica y pacífica, así como también al interior de algunos ríos de importancia en los procesos de captura de pescado, en estos estudios se ha demostrado la presencia de *Anisakis* en sus diferentes especies (*Anisakis physeteris*, *Anisakis sp.* *Pseudoterranova decipiens* *Contracaecum sp.*) demostrando porcentajes de infección muy altos en los pescados analizados, la distribución de estas especies se encuentra en la costa pacífica, parte de la costa atlántica, y algunos ríos de importancia económica en Colombia como son el río Sinú y el río San Jorge, a continuación se muestra de forma resumida los estudios realizados en Colombia (Tabla 2) (Castellanos *et al.*, 2020).

Tabla 2. Presencia parásitos de la familia Anisakidae (Castellanos *et al.*, 2020)

Hospedero (pez)	Nombre común	Lugar de estudio	Nematodo Identificado	Peces revisados	Prevalencia Infección
<i>Ageneiosus caucanus</i>	Doncella	San Marcos, Sucre	<i>Contracaecum sp.</i>	60	23,3
<i>Caquetaia kraussii</i>	Mojarra amarilla	San Marcos, Sucre	<i>Contracaecum sp.</i>	60	95
<i>Caranx hipos</i>	Jurel	Cartagena, Bolívar	Familia Anisakidae	12	8,5
<i>Centropomus armatus</i>	Róbalo	Buenaventura, Valle del Cauca	<i>Anisakis physeteris</i>	12	42
<i>Centropomus undecimalis</i>	Róbalo	Cartagena, Bolívar	Familia Anisakidae	23	4,3
<i>Hoplias malabaricus</i>	Moncholo	Cartagena, Bolívar	<i>Contracaecum sp.</i>	227	100
		San Marcos, Sucre	<i>Contracaecum sp.</i>	60	93,3
		Río Sinú y San Jorge, Córdoba	<i>Contracaecum spp.</i>	45	100
<i>Larimus argenteus</i>	Silver drum	Buenaventura, Valle del Cauca	<i>Anisakis physeteris</i>	2	100
<i>Merluccius gayi</i>	Merluza	Cartagena, Bolívar y Barranquilla, Atlántico	Familia Anisakidae	134	24,6
<i>Mugil cephalus</i>	Lisa	Buenaventura, Valle del Cauca	<i>Anisakis physeteris</i>	12	33
		Buenaventura, Valle del Cauca	<i>Anisakis sp.</i>	15	33
	Lebranche	Cartagena, Bolívar	Familia Anisakidae	19	100
<i>Mugil curema</i>	Lisa	Tumaco, Nariño	<i>Anisakis physeteris</i>	16	94
		Tumaco, Nariño	<i>Pseudoterranova decipiens</i>	16	94
<i>Mugil incilis</i>	Lisa	Cartagena, Bolívar	<i>Contracaecum spp.</i>	378	100
		Cartagena, Bolívar	<i>Pseudoterranova spp.</i>	378	80,5
		Cartagena, Bolívar	Familia Anisakidae	355	83,9

<i>Mugil spp.</i>	Múgil	Cartagena, Bolívar	<i>Familia Anisakidae</i>	5	100
<i>Plagioscion magdalenae</i>	Pacora	San Marcos, Sucre	<i>Contraecum sp.</i>	60	46,7
<i>Pseudoplatystoma magdaleniatum</i>	Bagre pintado	San Marcos, Sucre	<i>Contraecum sp.</i>	60	95
<i>Salminus affinis</i>	Rubio	Río Sinú y San Jorge, Córdoba	<i>Contraecum sp.</i>	45	95
<i>Sciades herzbergii</i>	Barbul chivo	Cartagena, Bolívar	<i>Familia Anisakidae</i>	64	1,6
<i>Sorubim cuspicaudus</i>	Blanquillo	San Marcos, Sucre	<i>Contraecum sp.</i>	60	100

La tabla 2 demuestra la presencia de diferentes especies de Anisakidos en el territorio nacional, dejando entrever el riesgo en salud pública que presenta la presencia de este parásito en diferentes tipos de pescados analizados (Figura 8)

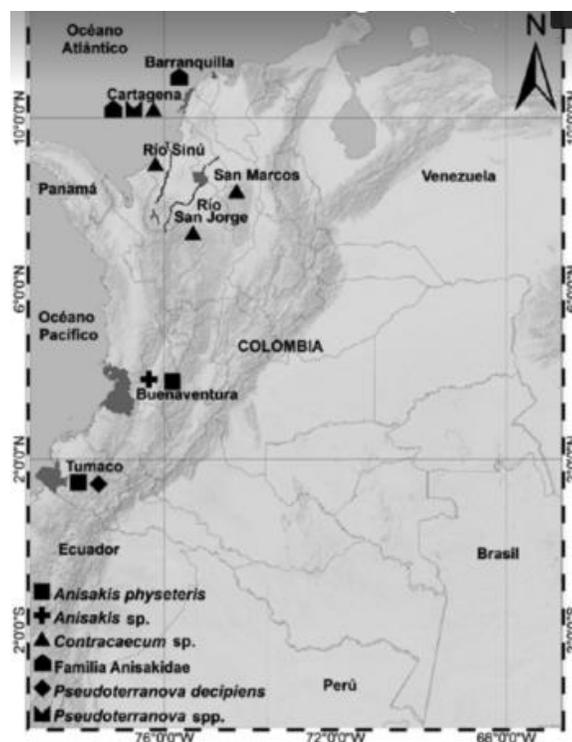


Figura 8. Distribución geográfica de diferentes géneros de la familia Anisakidae en Colombia (Castellanos *et al.*, 2020).

5.7 Enfermedad que produce los parásitos de la familia Anisakidae

Se denomina anisakidiasis o anisakidosis a la parasitación del hombre por la larva viva de parásitos de la familia Anisakidae, adquirida por la ingesta de pescado o cefalópodos parasitados crudos o semicocinados (Ishikura *et al.*, 1993).

Los parásitos del genero *Anisakis* spp., Pueden producir enfermedad en el ser humano mediante dos mecanismos:

- a) Por hipersensibilidad inmediata mediada por IgE (Hochberg & Hamer, 2010)
- b) Mediante el efecto local del parásito sobre la pared del tubo digestivo. (Nieuwenhuizen, 2016).

En cuanto al primer mecanismo siendo el más frecuente, el parásito posee varios antígenos capaces de inducir la síntesis de IgE y ocasionar diversos cuadros alérgicos cuya gravedad varía desde una simple urticaria hasta un angioedema e incluso shock anafiláctico (Nieuwenhuizen, 2016). Debido a los mecanismos por los cuales produce la enfermedad su diagnóstico se considera difícil (Hochberg & Hamer, 2010) ya que los síntomas que produce son inespecíficos. (Field *et al.*, 2009).

La infección primaria temprana se caracteriza por una infiltración y proliferación de neutrófilos con unas cuantos eosinófilos y células gigantes como cuerpos extraños. Poco edema, exudación fibrótica, hemorragia o puede haber daño vascular. En la primera semana de una infección aguda intestinal, puede haber un engrosamiento edematoso de la submucosa con infiltración masiva eosinofílica junto con linfocitos, monocitos, neutrófilos y células plasma.

En caso de gastritis crónica y anisakidiasis intestinal, puede presentarse abscesos caracterizados por necrosis y hemorragia con infiltración eosinofílica (Field & Calderón. 2009).

En casos avanzados (6 meses o años), los abscesos o inflamación granulomatosa puede ser reemplazada por tejido granular con un poco de infiltración eosinofílica (Field & Calderón. 2009; Colás *et al.*, 2017).

5.7.1 Manifestaciones clínicas:

Las principales manifestaciones clínicas son causadas por la penetración de las larvas en el tracto gastrointestinal de preferencia en el estómago, pero también intestino delgado, principalmente íleon. En ocasiones la ingestión de pescado infectado pasa inadvertida por el hombre ya que las larvas no llegan a invadir el tracto digestivo, pueden aparecer ligeros trastornos digestivos ocasionados por un proceso irritativo con molestias retroesternales que se atribuyen a la migración de las larvas a la orofaringe y que pueden producir tos, vómitos y expulsión de larvas por la boca y heces (Batet, 2002).

Los principales signos clínicos que reflejan los pacientes son las alteraciones gástricas, intestinales y alérgicas. Las gástricas en un 70% suelen aparecer a las 12- 48 horas de la ingesta del pescado, la fase aguda puede confundirse con una gastritis, perforación de estómago, úlcera o colelitiasis. Las larvas pueden ser vistas por gastroscopia y si no son eliminadas la infección puede quedar crónica durante meses o incluso años, (Hochberg & Hamer 2010) la fase crónica puede presentar dolor abdominal intermitente, náuseas y vómito, además de los mismos síntomas del cuadro agudo también puede presentar eosinofilia muy marcada hasta de un 40%. (Nieuwenhuizen, 2016) En las manifestaciones intestinales se cursa con dolor intenso en el hemiabdomen inferior acompañado con náuseas, vómito y sangre entera oculta en heces. Suele iniciarse como cuadro de abdomen agudo simulando apendicitis o una peritonitis aguda, o bien originando una obstrucción intestinal por estenosis del segmento intestinal donde asienta el parásito. Los síntomas suelen aparecer 7 días (Field *et al.*, 2009).

Después de la ingesta, la pared intestinal suele aparecer engrosada y edematosa, de forma excepcional se han encontrado localizaciones extraintestinales tales como en el mesenterio, cavidad abdominal, páncreas, hígado y pulmón. Las manifestaciones alérgicas se suelen presentar pocas horas después de la ingesta, los productos metabólicos liberados por las larvas son potentes antígenos, los cuales producen reacciones de hipersensibilidad inmediata mediada por IgE tras ingerir pescado crudo, en pacientes sensibilizados pueden aparecer cuadros alérgicos como prurito, urticaria, asma, angioedema e incluso anafilaxia, estos síntomas pueden cursar solos o acompañados por alteraciones gastrointestinales (Field *et al.*, 2009). Los efectos a largo plazo en

la mucosa gastrointestinal pueden generar daños y lesiones a nivel celular que puede ser factor de riesgo para desarrollar cáncer gástrico o cáncer intestinal (Figura 9) (Colás *et al.*, 2017)

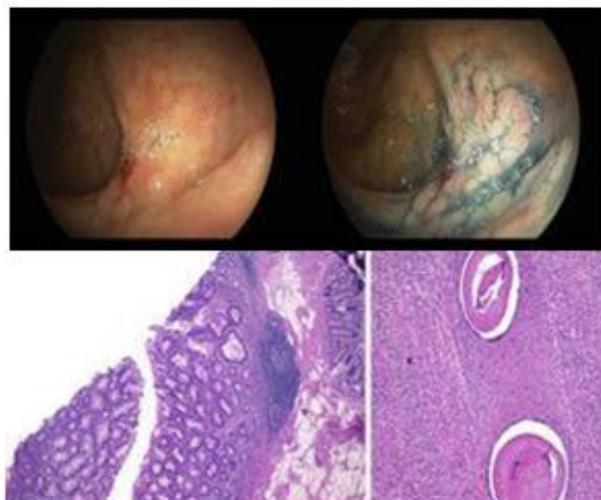


Figura 9. Lesiones gastrointestinales causadas por *Anisakis* spp. (Colás *et al.*, 2017)

- A) Fragmentos de adenoma túbulo vellosa de intestino grueso con displasia epitelial de alto grado / adenocarcinoma *in situ*, donde no se pudo establecer un nivel de Haggitt debido a que había varios fragmentos, B) Área de infiltrado inflamatorio eosinofílico predominantemente transmural con formación de microabscesos, localizada en la capa muscular del ciego, con displasia de bajo grado en la mucosa subyacente

5.7.2 Tipo de alérgenos que produce los parásitos del genero *Anisakis* spp.

Desde el punto de vista estructural y funcional *A. simplex* agrupa tres tipos de antígenos que intervienen el desarrollo de la enfermedad que producen (Figura 10), de esta manera *Anisakis* spp., cuenta con (García *et al.*, 2005).:

1. **Antígenos somáticos.** Son los antígenos más abundantes con un peso molecular entre 13-150 kDa. Algunas de estas proteínas presentan reactividad cruzada con otros ascáridos. Estos antígenos se obtienen por homogeneización de las larvas enteras y contienen todas las proteínas solubles del parásito (García *et al.*, 2005).
2. **Antígeno ES (de excreción-secreción).** Son moléculas procedentes del propio parásito y que se liberan al medio durante la infección. Se sintetizan en dos estructuras corporales, la

glándula esofágica dorsal o las células secretoras del tracto digestivo, las cuales constituyen la mayor fuente de enzimas histolíticas (con actividad proteolítica e hialuronidasa). Estas moléculas ayudan al parásito a penetrar en la mucosa gástrica y pueden degranular mastocitos en ratones sensibilizados. Los anticuerpos frente a estos antígenos son los primeros en aparecer (García *et al.*,2005).

3. **Antígenos de superficie.** Corresponden a moléculas expresadas en la cutícula del parásito, que también se encuentran en otros nematodos. (García *et al.*,2005).

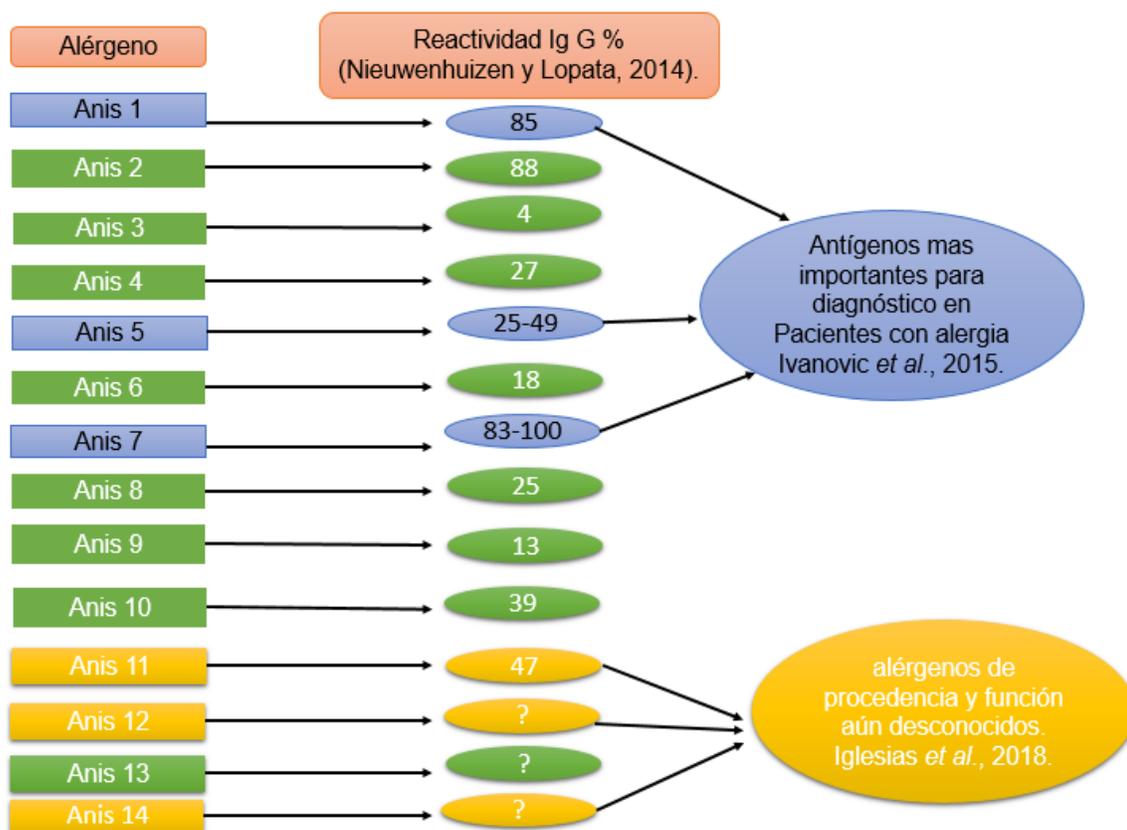


Figura 10. Antígenos que produce *Anisakis spp.*, se destacan los antígenos Anis 1,5,7 como los principales alérgenos que se pueden identificar en el ser humano

5.7.3 Reacción alérgica producida por parásitos del género *Anisakis* spp.

La Anisakidiasis alérgica se produce cuando la presencia de alérgenos larvarios (debido a larvas de parásitos vivas o muertas) desencadena una respuesta alérgica en el huésped, con síntomas que varían desde urticaria (Kasuya *et al.*, 1990) y / o angioedemas hasta anafilaxia (Audícana *et al.*, 1995; Suelen aparecer dentro de la primera hora después consumir el pescado parasitado. Aunque no está absolutamente claro si una larva muerta (después de la cocción o congelación del pescado) es capaz de sensibilizar al sujeto, hay evidencia para sugerir que la sensibilización humana solo puede producirse por contacto con larvas vivas, aunque, una vez sensibilizado, el sujeto también presentará una respuesta alérgica a larvas muertas (Alonso-Gómez *et al.*, 2004; Audícana *et al.*, 2002; Daschner *et al.*, 2012). Citado por (Adroher & Benítez 2020).

El grave problema que causa la presencia de alérgenos en las larvas de *Anisakis* radica en severa y extensa afectación cutánea, con lesiones habonosas y ronchas (Figura 11), así como poliartralgias con afectación de rodillas y tobillos, esto es importante porque esta sintomatología puede presentarse en ausencia de larva siendo este último aspecto lo que causa retraso en el diagnóstico (Fernández *et al.*, 2015).



Figura 11. Lesiones que produce el complejo *Anisakis simplex* (Fernández *et al.*, 2015).

severa y extensa afectación cutánea, con lesiones habonosas y vasculíticas (a,b), así como poliartralgias con afectación de rodillas y tobillos (c)



5.8 Comportamiento de casos de Anisakidiasis en el mundo (cronología)

En la década de 1950, Ishikura notó en el pueblo pesquero de Iwanai, Hokkaido, una enfermedad intestinal que frecuentemente ocurría en invierno con características clínicas e histopatológicas diferentes a las de la ileitis. Para 1959, se habían informado treinta casos de esta enfermedad. En el examen histológico se encontraron secciones transversales de un gusano similar a un nematodo, y las muestras se enviaron a los parasitólogos quien determinaron el parásito encontrado como *Anisakis* spp. (Ishikura *et al.*, 1993).

En 1960 van Thiel encontró en los Países Bajos la larva de un nematodo en la pared intestinal de un paciente que, después de comer arenque crudo, sufrió un síndrome abdominal agudo. La larva fue identificada como *Anisakis*. En 1962 la enfermedad se llamó anisakidiasis (Ishikura *et al.*, 1993).

Hay más de 2500 casos de anisakidiasis por año en Japón, en los Estados Unidos, la incidencia es de 10 casos por año. En Europa, los países donde la anisakidiasis se notifica con mayor frecuencia son España, Noruega, Holanda y Reino Unido (Tabla 3). La incidencia exacta es difícil de establecer, pero parece promediar menos de 20 casos por país por año. Sin embargo, en 2005, un total de más de 30 casos fue informado en Italia (Pampiglione *et al.*, 2002). En Francia, un informe del InVS de 2003 estimó incidencia en ocho casos por año, utilizando datos de un estudio realizado en 1985-1987. Los fenómenos de anisakiasis alérgica y sensibilización a *Anisakis* spp., han sido una preocupación creciente desde que se describieron por primera vez en la década de 1990. Un estudio español ha implicado a *Anisakis* en el 10% de las reacciones anafilácticas resultante de reacciones alérgicas. Además, *Anisakis* spp (Choi *et al.*, 2009).

Debido a la escasez de datos epidemiológicos, la anisakidiasis la carga sigue siendo desconocida. Sin embargo, se reportaron 20000 casos de anisakidiasis en todo el mundo antes de 2010, con > 90% en Japón. España parece tener la segunda incidencia más alta notificada. (Herrador, & Benito 2019).

Tabla 3. Casos de Anisakiidiasis reportados hasta los años noventa desde su descubrimiento como enfermedad (Ishikura *et al.*, 1993; Ubeira *et al.*, 2000).

País	# de casos hasta los años 90
los países bajos	292
Alemania occidental	81
Francia	64
Estados Unidos	51
Corea	11
GDR	10
Bélgica	9
Ucrania	8
Reino Unido	6
Noruega	5
Polonia	5
Chile	5
Canadá	3
Suecia	3
Brasil	2
Israel	2
Dinamarca	1
Italia	1
Nueva Zelanda	1
Groenlandia	1
Samoa Occidental	1
Taiwán	1
Tahití	1
Total	559

País	# de casos hasta los años 2000
Alemania	91
Bélgica	10
Dinamarca	1
España	60
Francia	65
Gran Bretaña	9
Holanda	292
EEUU	50
Nueva Zelanda	1
Tahití	1
Corea	107
Japón	12541
Taiwán	1
Italia	3
Noruega	6
Polonia	5
Suecia	3
Brasil	2
Canadá	3
Chile	5
Groenlandia	1
Samoa	1
Rusia	1
Israel	2
Tailandia	1
TOTAL	13262

5.9 Reportes de casos de Anisakidiasis en Colombia

En Colombia se han realizado estudios que han determinado de manera extraoficial la presencia de la enfermedad en humanos (Figura 12)(Rodríguez, 2016), sin embargo, a la fecha ante el instituto nacional de Salud solo se ha reportado un caso.

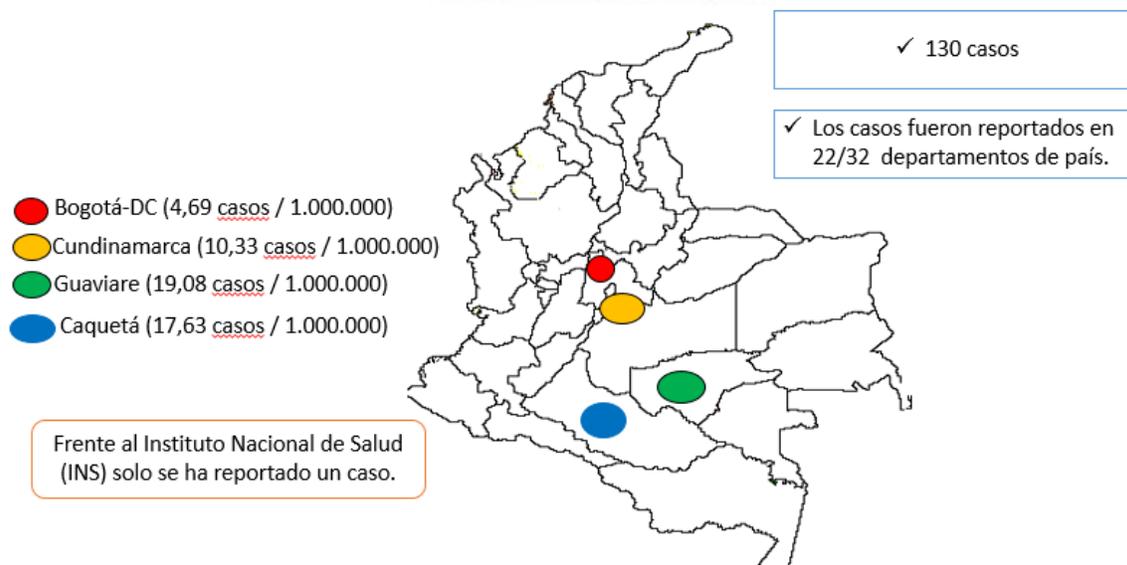


Figura 12. Cifras de casos de Anisakidiasis en Colombia (Rodríguez, 2016) Reportes extraoficiales de la incidencia de casos en Colombia durante el periodo 2015

El primer caso reportado se dio en 2017 en una mujer de 52 años en la ciudad de Bogotá y consulta con antecedentes de dolor epigástrico agudo de inicio abrupto, náuseas, vómitos, diarrea y urticaria después de consumir pescado. El examen físico reveló sensibilidad moderada en el epigastrio. La evaluación de laboratorio mostró leucocitosis y la radiografía simple y el ECG no mostraron anormalidad. El diagnóstico se realizó por examen endoscópico, que reveló una pared gástrica engrosada y un parásito anisakido en movimiento. Se encontró una larva de *Anisakis* y se extrajo endoscópicamente, lo que alivió el dolor de la paciente (Patiño, 2019).

Hasta el momento es el único caso reportado para Colombia que se conoce en la literatura científica.

5.10 Diagnóstico para detectar parásitos de la familia Anisakidae

De acuerdo a la evolución del paciente afectado por este tipo de parásitos se puede acudir a las siguientes pruebas diagnósticas (Tabla 4).

Tabla 4. Pruebas diagnósticas para detectar la presencia parásitos de la familia Anisakidae (Audicana & Kennedy. 2008)

Tipo de Diagnostico	Técnica	Cuando utilizar la prueba diagnóstica
Diagnóstico por imagen	Ecografía Endoscopia	Forma gástrica o intestinal crónica Forma gástrica Aguda
Técnica Histopatológicas	Visualización por medio de placas histopatológicas el tipo de lesión	Forma de la enfermedad crónica para determinar tipo de lesión: tipo absceso, abseso-granuloma, lesión tipo granuloma
Pruebas cutáneas	Prick-test	Reacción de hipersensibilidad tipo I
Inmunofluorescencia	En conjunto con las pruebas histológicas	Anisakidiasis intestinal para determinar presencia de anticuerpos
Rast	Inmovilización del alérgeno de interés	Anisakidiasis alérgica
Técnicas inmunoenzimáticas	Elisa, FEIA	Determinación de IgE específica contra antígenos de excreción-secreción

5.11 Técnicas diagnósticas para la identificación de parásitos de la familia Anisakidae

5.11.1 Examen visual.

Es un método muy sencillo y nada destructivo para la detección de larvas de parásitos de la familia Anisakidae sin embargo no discrimina entre larvas vivas y muertas esta técnica consiste en la búsqueda de las larvas en la superficie de las vísceras y en el músculo del pescado (Ponce, 2012). Según Huang 1990, se ha demostrado que este método permite determinar entre 45-83% de las larvas ubicadas en el músculo de algunos tipos de pescado como la Merluza, las Anchoas entre otros y debe ser empleado sólo para filetes o pescados pequeños, no es aconsejable para examinar piezas de gran tamaño, pigmentadas o con piel. Actualmente, es uno de los métodos utilizados en la industria procesadora de países como España y Perú (Dirección de Investigación y Desarrollo, 2018).

5.11.2 Transiluminación o Candling

Este método se utiliza para detectar parásitos en filetes sin piel, los cuales se observan sobre una superficie translúcida iluminada con luz blanca por la zona inferior (Figura 13), se puede utilizar en la industria procesadora para detectar larvas que pueden estar localizadas en el interior del

músculo hasta una profundidad de 5-6 mm; pero si el espesor del filete es de 1 cm tan sólo se detectan (Ponce, 2012).

las larvas de *Pseudoterranova decipiens*. Mur en 2001; y Levsen *et al.*, 2005, consideran que esta técnica tiene baja eficacia y solamente se detecta entre el 7 y 10% de las larvas presentes en los filetes infestados y ha sido utilizado en países como España (Dirección de Investigación y Desarrollo, 2018).



Figura 13. Transiluminación (Cabezas *et al.*, 2006)

Se observa el método utilizado en la industria para identificar estructuras parasitarias utilizando un fondo de luz blanca.

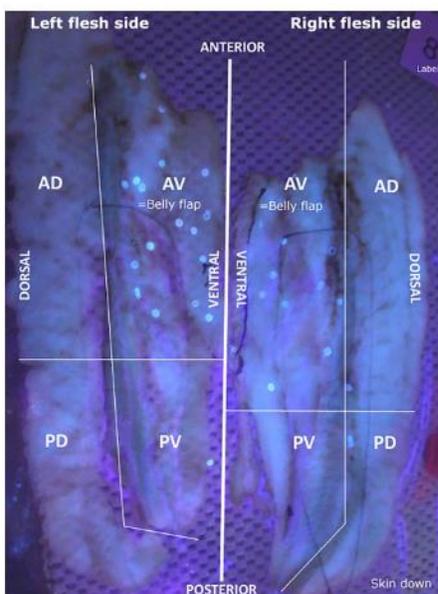
5.11.3 Detección por luz ultravioleta

Este método es muy similar al anterior, salvo que en lugar de utilizar luz blanca se utiliza luz ultravioleta a una longitud de onda de 366 nm. El procedimiento consiste en hacer incidir luz ultravioleta a unos 10 cm sobre la superficie del pescado examinándolo por ambos lados. Sin embargo, para una mayor eficacia requiere que se congele y descongele la muestra (Dirección de Investigación, Desarrollo 2018).

5.11.4 Método de presión y fluorescencia

Este método elimina el problema del grosor de las piezas cuando son evaluadas por emisión de fluorescencia(Ponce.2012). Los filetes son sometidos a una presión previa con el fin de conseguir un espesor de 1-2 mm, para lo cual los filetes dorsales y ventrales sin piel se introducen individualmente en bolsas de plástico transparente, se someten a presión con prensa hidráulica, se

congelan a $\leq -18^{\circ}\text{C}$ durante un periodo igual o superior a 12 h y posteriormente se someten a inspección visual bajo una fuente de luz UV a 366 nm (Figura 14) (Gómez *et al.*, 2018; Dirección de Investigación, Desarrollo 2018).



**Figura 14. Observación de larvas de *Anisakis spp.*, por el método de prensado y LUV (Levsen *et al.*, 2018)
Se observa puntos blanquecinos que son compatibles con la presencia de larvas de parásitos del género *Anisakis spp.***

5.11.5 Digestión con pepsina

No es recomendado para inspecciones industriales. La técnica consiste en reproducir las condiciones físico-químicas del estómago de los mamíferos y someter al músculo a una solución de pepsina y ácido clorhídrico a 37°C , y de esta forma separar las larvas del tejido muscular o vísceras en el que se encuentran alojadas. La cutícula de las larvas es estable en estas condiciones de digestión y el método permite distinguir entre larvas vivas y muertas. Sin embargo, si la cutícula se encuentra alterada por algún proceso previo, puede dejar de ser estable y las larvas se pueden digerir, por lo que en estudios con larvas tratadas la recuperación puede ser menor de la esperada (Ponce, 2012; Gómez *et al.*, 2018; Dirección de Investigación, Desarrollo 2018).



Estudios han demostrado la sensibilidad y la especificidad de las pruebas más utilizadas para el diagnóstico de el *Anisakis* en filetes de pescado (Tabla 5).

Tabla 5. Sensibilidad y especificidad de pruebas para identificación de *Anisakis* spp., (Gómez *et al.*, 2018)

	Uv- Press	Digestión artificial
Exactitud	100% (95% CI: 88.4%-100%)	98% (95% CI: 82.8% -99.1%)
Sensibilidad	100% (95% CI: 86.3% -100%)	96% (95% CI: 79.6% -99.9%)
Especificidad	100% (95% CI: 47.8% -100%)	100% (95% CI: 47.8% -100%)

Coefficiente Kappa: comparación entre la prueba Gold Standard, Digestión artificial (AD) y el método de presión y luz ultravioleta (UVP) (Tabla 6) (Gómez *et al.*, 2018).

Tabla 6. Coeficiente Kappa entre las pruebas AD-UVP (Gómez *et al.*, 2018)

	Exactitud	Acuerdo esperado	Kappa	95%CI
UVP	90.0%	24.4%	0.87	0.82-1.00
AD	83.3%	23.3%	0.78	0.68-0.82

5.11.6 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Extracción de ADN

Para la extracción de ADN de Anisakidos se han documentado algunos métodos que han permitido extraer ADN de los géneros *Anisakis*, *Contracaecum*, *Pseudoterranova* e *Hysterothylacium* se ha estandarizado que la cantidad de muestra para extracción son 100 mg de la larva, la cual se somete a diferentes procesos para obtención de una alícuota que se utiliza para la identificación molecular a través de PCR (Seesao *et al.*, 2014).

Algunos autores proponen la PCR para la amplificación de secuencias específicas del ADN de los Anisákidos y es considerado un método rápido y específico para la detección e identificación taxonómica de los parásitos del pescado (Ponce.2012; Dirección de Investigación, Desarrollo 2018).



La técnica de reacción en cadena de la polimerasa, descrita por Mullis en 1987, simula in vitro la replicación del ADN que tiene lugar de forma natural en las células. Esta metodología permite obtener gran número de copias a partir de un segmento determinado de ADN. Por esta razón, utiliza pequeñas cantidades de muestra del parásito, fresco o fijado en etanol, para el análisis y es independiente del estadio de desarrollo del mismo (Degese, 2015).

Recientemente, herramientas basadas en la reacción de PCR han sido utilizadas para la caracterización de especies de anisákidos en múltiples loci, incluyendo la región del espaciador transcrito interno ribosomal (ITS) y los genes de las subunidades I y II de la citocromo oxidasa C mitocondrial (D'Amelio *et al.*, 2013; Mattiucci *et al.*, 2013). En los organismos eucariotas, los genes de ADN ribosomal nuclear (ADNr) que codifican las subunidades ribosomales 18S, 5.8S y 28S, se agrupan en regiones repetidas en tándem, se trata de una estructura compleja formada por genes altamente conservados (Seesao *et al.*, 2014).

Las secuencias utilizadas para la identificación de *Anisakis*, *Contracaecum*, *Pseudoterranova* e *Hysterothylacium* que se han reportado para identificación molecular se muestran en la tabla 9.

5.12 Prevención y control

5.12.1 Especies de peces susceptibles de contraer parásitos Anisakidos

Se considera que cualquier pescado marino es susceptible de estar parasitado por larvas de Anisákidos. Entre las numerosas especies de peces y cefalópodos que sufren la parasitación, muchas son de importancia comercial, como el arenque (*Clupea*), la sardina (*Sardina pilchardus*), la anchoa (*Engraulis encrasicolus*), el salmón (*Salmo*), el abadejo (*Pollachius pollachius*), la merluza (*Merluccius*), la bacaladilla (*Micromesistius poutassou*), la locha (*Cobitidae*), la caballa (*Scomber scombrus*), el bonito/atún (*Tuna*), el rape (*Lophius*), el rodaballo (*Scophthalmus maximus*), el jurel (*Trachurus trachurus*) o los calamares, entre otros. La cantidad de larvas y su distribución dentro del pez dependen de sus hábitats marinos y de sus hábitos alimentarios: en los peces que se alimentan de eufásidos (bacaladilla, arenque, caballa), las larvas se alojan mayoritariamente en la cavidad abdominal y vísceras, mientras que en aquellos que se alimentan de otros peces (abadejo, bacalao, merluza, locha, rape) son abundantes en la musculatura que rodea la cavidad abdominal del pez. (Garrido *et al.*, 2012).

5.12.2 Preparaciones con pescados que representan un potencial riesgo

Teniendo en cuenta las prevalencias de parásitos de la familia Anisakidae que se han encontrado en los pescados de diferentes partes del mundo como por ejemplo en Italia el 54.2% en las anchoas (Guardone *et al.*, 2018), en España los salmones parasitados han mostrado una frecuencia de 72.5 % (Bilska *et al.*, 2016) en Chile 21.8% de los ceviches analizados (Torres *et al.*, 2018), también se han clasificado las preparaciones que presentan más riesgo para el ser humano al consumirlas parcial o totalmente crudas (Tabla 7):

Tabla 7. Preparaciones a nivel mundial con riesgo de transmitir *Anisakis spp.*, (Garrido *et al.*, 2012).

País	Alimento (especialidad de pescado)
Todos	<i>Sushi, sashimi</i> , pescado ahumado, <i>sprat</i> (arenque, salmón, caballa, bonito, atún)
Todos	Cebiche sudamericano (lenguado, pejerrey, caballa, bonito, mero, pulpo, calamar, corvina, tiburón)
Dinamarca	Arenque ahumado y/o en salazón
Italia	Anchoas marinadas
Escandinavia	<i>Gravlax</i> (salmón)
España	Anchoas en vinagre (boquerones)
Alemania	<i>Rollmops</i> (arenque)
Holanda	<i>Nieuwe</i> (arenque)

5.12.3 Factores que favorecen la presencia de parásitos de la familia Anisakidae

El cambio climático está transformando los océanos del mundo aumentando la temperatura y la acidez del agua de mar y alterando la circulación atmosférica y oceánica. Esto tiene consecuencias para la distribución de especies y la composición en los ecosistemas marinos, cambiando la biogeografía y la biodiversidad en los hábitats acuáticos. La variabilidad natural de factores abióticos como la temperatura del agua y las circulaciones oceánicas se relativamente alto, a menudo siguiendo patrones no lineales o cíclicos. Los hábitats sufren un cambio de hábitat antropogénico significativo, principalmente causado por la sobreexplotación y el uso insostenible de los ambientes acuáticos (Klimpel & Palm, 2011)



El cambio climático global puede influir en la distribución de larvas de *Anisakis* en sus hospedadores, lo que también podría afectar la infección humana, lo anteriormente expuesto conduce a considerar que la prevalencia de los anisákidos en las distintas especies de pescado, depende de la distribución de los hospedadores intermediarios y finales los cuales, según se hallan influenciados por las corrientes marinas y por el clima (Mur, 2001).

Las temperaturas no influyen directamente sobre la presencia de parásitos en el pescado, pero, indirectamente deben considerarse importantes para explicar los desplazamientos verticales de algunas especies de pescado en busca de alimento, así como, la abundancia y composición del zooplancton del que se alimentan y, en consecuencia, la posible infección de estos invertebrados (Mur, 2001).

Por tanto, los factores que intervienen en la diseminación del parásito son:

- 1- La época del año (temporada seca) que hace que algunas especies migren de aguas cálidas a aguas más frías.
- 2- La presencia del hospedador definitivo y el hospedador intermediario que depende de la composición del zooplancton que cambia su composición de acuerdo a las condiciones climáticas a las cuales se encuentre expuesto y que sirve como alimento para este tipo de hospedadores.

El agua la temperatura y la salinidad parecen ser los principales factores limitantes responsables de la presencia o ausencia de diferentes especies de *Anisakis* de diferentes condiciones climáticas o cuencas hidrológicas definidas hidrológicamente. Tal condición ocurre en el mar Mediterráneo, donde las temperaturas medias varían de 12.8 a 13.5 ° C en la cuenca occidental a 13.5–15.5 ° C en el este, y altas salinidades medias de 37.5–39 (Mattiucci *et al.*, 2018). De esta manera estos aspectos favorecen la presencia de *Anisakis* en determinadas zonas de acuáticas del mundo.

En las aguas del Atlántico sudamericano, la circulación del agua se caracteriza por la extensión sur de la plataforma patagónica, que es una de las más grandes aparte de tener los ecosistemas más productivos del hemisferio sur, junto con la corriente de las Malvinas. Las dos corrientes corren cerca a la costa y se encuentran en la pendiente continental, cerca de 38 ° , creando una fuerte zona frontal, que establece la división entre las aguas subtropicales y subantárticas Curiosamente, la corriente de las Malvinas produce un gradiente de temperatura latitudinal, que disminuye hacia el



sur, mientras que en la parte norte de la costa argentina influye de manera cálida juntándose con la corriente brasileña, este frente oceanográfico sería responsable, entre otras variables abióticas, de dar forma a la corriente distribución y prevalencia de *Anisakis* spp., en estas aguas (Mattiucci *et al.*, 2018).

5.12.4 Alternativas de prevención de Anisakidiasis

La FDA (2008) recomienda lo siguiente para preparar o almacenar mariscos para matar parásitos.

- **Cocina (Mariscos en General)**
 - Cocinar los mariscos adecuadamente (a una temperatura interna de al menos 145 ° F [~ 63 ° C]).
- **Congelación (Pescado)**
 - A -4 ° F (-20 ° C) o menos durante 7 días (tiempo total), o
 - A -31 ° F (-35 ° C) o menos hasta que esté sólido, y almacenando a -31 ° F (-35 ° C) o menos durante 15 horas, o
 - A -31 ° F (-35 ° C) o menos hasta que esté sólido y se almacene a -4 ° F (-20 ° C) o menos durante 24 horas.(Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, 2019)

5.13 Normatividad mundial para control de larvas parasitarias la familia Anisakidae

En el mundo la mayoría de países que tienen la presencia del parásito acatan el control y cuidado que recomienda la FDA, y lo implementan de acuerdo a su sistema de importación y exportación de productos pesqueros (Tabla 8).

Tabla 8. Principales normas para control de parásitos de la familia Anisakidae en el mundo (Iglesias & Ubeira. 2008)

Normativa	Organismo	Productos afectados	Obligaciones/recomendaciones	Comentarios aclaratorios
Reglamento (CE) 853/2004	UE	<p>Productos a consumir crudos o prácticamente crudos</p> <p>Productos de arenque, caballa, espadín, y salmón salvaje sometido a ahumados en frío (temperatura central < 60°C</p> <p>Productos sometidos a saladas que no matan larvas de nematodos</p>	<p>Congelar a -20°C o menos en la totalidad del producto durante al menos 24 horas</p> <p>En el momento de la puesta en el mercado, el producto debe ir acompañado de un documento del fabricante en el que se especifique el tipo de proceso al cual ha sido sometido</p>	<p>La congelación no será necesaria cuando los datos epidemiológicos de la zona de procedencia indiquen que no existe riesgo de presencia de parásitos o cuando las autoridades competentes así lo dispongan</p> <p>La documentación no será necesaria cuando el producto ya haya sido sometido a dicho tratamiento y se disponga de un medio documental que si lo acredite</p>
Real Decreto 1420/2006	Ministerio de Sanidad y Consumo	Las mismas que en el reglamento (CE) 853/2004	<p>Congelar como se especifica en el reglamento (CE) 853/2004</p> <p>Informar al consumidor de que los productos afectados han sido a dicho proceso de congelación</p>	La congelación no será necesaria cuando el producto ya haya sido sometido a dicho tratamiento y se disponga de un medio documental que así lo acredite
Fish and fishery products hazards and controls guidance 3rd ed. 2001	FDA (EEUU)	Productos de la pesca a consumir crudos o insuficientemente cocinados	Congelar a -20°C o menos durante una semana o a -35°C o menos hasta que el producto se haya solidificado y almacenado posteriormente a -35°C o menos durante 15 h o a -20°C o menos durante 24 h	Estas condiciones no podrían ser adecuada para productos de grosor de 15 cm
Food retail and food services code	CFIS (Canada)	Productos de la pesca a consumir crudos, incluido pescado marinado y parcialmente cocinado	Congelar a -20°C durante una semana o a -35°C por 15 horas en un congelador rápido	



5.14 Normatividad Colombiana para el control de microorganismos en especies acuáticas

Como se ha venido recalando Colombia no cuenta con una normatividad específica para identificación de parásitos de la familia Anisakidae sin embargo cuenta con algunas resoluciones, decretos, y manuales que se basan en las normatividades mundiales que permiten un control de microorganismos de declaración oficial, el problema radica en que los parásitos Anisakidos no son microorganismos de control oficial por tanto la normatividad es general para la prevención de cualquier tipo de microorganismo.

Resolución 776 de marzo 2008 Instituto de vigilancia y control de medicamentos y alimentos (INVIMA): Por medio de la cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos que deben cumplir los productos de la pesca, en particular pescados, moluscos y crustáceos para el consumo humano.

Decreto 561 de 1984 (Ministerio de protección social): Por el cual se reglamenta parcialmente el Título V de la Ley 09 de 1979. en cuanto a captura, procesamiento, transporte y expendio de los productos de la pesca.

Resolución 468 DE 2012 (Ministerio de protección social). Por el cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que deben cumplir las motonaves o buques dedicados a la captura, congelamiento o procesamiento de productos de la pesca y sus derivados y el procedimiento para la certificación del Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (Haccp) en motonaves o buques pesqueros con destino a la Unión Europea (Ministerio de Salud y Protección Social 2012).

Guía técnica colombiana 279: Para productos de la pesca y la acuicultura para el control de parásitos asociados con el consumo de pescado crudo o poco cocido.

Manual de inspección a fábricas de productos pesqueros (INVIMA), por el cual se establecen los parámetros para inspección de canales de productos pesqueros.



5.15 Cuál es el desafío en el control de parásitos como *Anisakis* spp.

A 2017 Colombia cuenta con un consumo Per cápita de casi 7kg/persona/año, Para 2018 se cree que alcanzo los 8kg/persona/año según cifras DANE Y Ministerio de agricultura, Esto quiere decir que hay un consumo considerable de productos acuícolas, razón por la cual consumir productos pesqueros inocuos es de total importancia ya que se debe garantizar que este tipo de alimentos no cuente con la presencia de ningún microorganismo, además de ello la influencia de la cocina oriental donde sus preparaciones son a base de pescado crudo permiten centrar estudios en la materia prima utilizada razón por la cual es necesario realizar su análisis y corroborar que son aptos para consumo humano.

Para 2030, se espera que el consumo total de pescado aumente en todas las regiones y subregiones, con un gran crecimiento proyectado en América Latina (+33%), África (+37%), Oceanía (+28%) y Asia (+ 20%) (FAO 2018).

En términos per cápita, se prevé que el consumo mundial de pescado alcance los 21,5 kg en 2030. El consumo per cápita aumentará en todas las regiones excepto en África (-2 por ciento). Las mayores tasas de crecimiento se proyectan para América Latina (+18 por ciento) y para Asia y Oceanía (+8 por ciento cada uno).(FAO, 2018)

Por tal motivo el controlar este tipo de enfermedades de interés zoonótico es indispensable para preservar la integridad y salud de los seres humanos en todos los territorios ya que con los datos anteriores por razones de salud y características nutritivas del pescado el consumo se incrementará lo que conlleva a que los médicos veterinarios pongan su atención en controlar y verificar que se ofrece un producto con los más altos estándares de calidad.



6 Metodología

6.1 Prueba piloto

Antes de definir la metodología del proyecto, se realizó una prueba piloto para estandarizar el protocolo de obtención de muestras, tiempo de transporte, técnica diagnóstica, y formato para obtención de datos además de definir según su comercialización el tipo de muestras más comercializadas (fresca o congelada) La prueba piloto tuvo lugar a pequeña escala en la plaza Minorista José María Villa y Placita de Flórez, de donde se analizaron dos muestras de cada especie por lugar para un total de 8 filetes.

6.2 Tipo de estudio y diseño metodológico

Estudio observacional de tipo seccional cruzado, el cual recibió aval expedito por parte de Comité de Ética para Experimentación Animal de la Universidad de Antioquia (Acta 123 del 2 de abril de 2019). El tamaño de la muestra de filetes de pescado congelado ($n=384$) para la detección de los parásitos de la familia Anisakidae se calculó utilizando una fórmula para estimar una proporción con los siguientes criterios. Proporción esperada en la población del 50%, por desconocimiento de la frecuencia del parásitos de la familia Anisakidae en pescado congelado en Medellín y su área metropolitana y nivel de confianza del 95% y error estimado para el estudio del 5% (García *et al.*,2013). Las muestras de pescado congelado se obtuvieron en tres plazas de mercado de Medellín y su área metropolitana (Plaza Minorista José María Villa, Central Mayorista de Antioquia, Placita de Flórez) siendo representativos para la población al ser los más visitados y reconocidos por los consumidores de pescado según la Alcaldía de Medellín (Figura 15), además son los principales abastecedores de alimentos que registra el *Departamento Administrativo Nacional de Estadística* (DANE,2017) para Antioquia.



Figura 15. Georreferenciación lugares de muestreo realizado en Medellín y su área metropolitana

6.2.1 Criterios de inclusión y exclusión

Se determinó como criterios de selección las especies de mayor comercialización según las cifras que reporta el *sistema del servicio estadístico de Colombia* (SEPEC,2017), para el departamento de Antioquia. Las especies de pescado a analizar se escogieron con base a su uso frecuente en los diferentes tipos de preparaciones que se consumen de forma cruda o sellado parcial. Se tomaron filetes de los siguientes tipos de pez: *Scomberomorus spp* (Sierra), *Salmo salar* (Salmón), *Thunnus spp* (Atún), *Merluccius merlusus* (merluza). El corte del filete debía estar congelado. Como criterios de exclusión se consideró pescado fresco sin eviscerar, seco o en cualquier preparación.

6.2.2 Muestreo

El muestreo se definió de acuerdo a la proporción de toneladas desembarcadas para el departamento de Antioquia (Tabla 9), de esta manera la sierra (*Scomberomorus spp*) estuvo representada con el 52% (n=197), el salmón (*Salmo salar*) 35%, (n=137), el atún *Thunnus* el 10%, (n=37) y la merluza, (*Merluccius merluccius*) el 3% (n=13), el peso de los filetes congelados fue de 200gr. Es importante mencionar que todas las muestras se Compraron congeladas.

Tabla 9. Proporción de muestras de filetes de pescado congelado teniendo en cuenta la cantidad de toneladas desembarcadas en Antioquia-Colombia

Especie escogida para el estudio	Cantidad de toneladas	Porcentaje %	Numero de muestras
Sierra	20.07	52	197
Salmón	13.38	35	137
Atún	4.02	10	37
Merluza	1.02	3	13

Sistema de información del Servicio Estadístico Pesquero Colombiano (SEPEC)

Posteriormente se realizó una segunda designación proporcional pero esta vez de acuerdo al número de locales que tienen cada plaza de mercado incluida en el estudio, (Tabla 10) de esta manera se determinó que el 61% (n= 235) de las muestras de filetes congelados se debía obtener en la plaza de mercado José María Villa, el 26% (n=97) en la plaza Central Mayorista de Antioquia, y el 13%(n=52) de la plaza de mercado Placita de Flórez.

Tabla 10. Proporción de muestras de filetes de pescado congelado teniendo en cuenta el número de locales de cada plaza de mercado

Plazas de mercado escogidas para el estudio	# de locales	Porcentaje %	Numero de muestras
Plaza Minorista José María Villa	19	61	235
Central Mayorista de Antioquia	8	26	99
Placita de Flórez	4	13	50

Estos datos junto con la proporción de especies desembarcadas permitieron obtener el número total de filetes congelados por especie y lugar a muestrear (Tabla 11).

Tabla 11. Asignación proporcional total de muestras de filetes de pescado de acuerdo a la especie y volumen de comercialización según cantidad de pescado desembarcado en Antioquia, Colombia

Especie escogida para el estudio	Plaza Minorista José María Villa	Central Mayorista de Antioquia	Placita de Flórez
Sierra	122	51	26
Salmón	82	35	18
Atún	24	10	5
Merluza	7	3	3

Una vez conocido el número de filetes por plaza de mercado, se realizó una aleatorización teniendo en cuenta el listado de los locales que venden pescado en cada plaza, esto con el fin de conocer en qué locales se compraría el producto, para este fin se utilizó el aplicativo Microsoft Excel 2010. De acuerdo a los resultados obtenidos en la aleatorización se escogieron los cinco primeros locales. Definido esto, el total de los filetes a comprar en cada lugar se dividió de tal manera que en cada local se obtuvieran la misma cantidad de filetes, los cuales tuvieron un peso de 200grs.

Finalmente, para la obtención de los datos se realizó una entrevista semiestructurada con el personal que comercializa el pescado para obtener información sobre el lugar de procedencia del pescado muestreado, el lugar de comercialización, y el tipo de pez a evaluar, esta información fue documentada en el formato de captura de datos (Tabla 12). La compra de los filetes se realizó de tal manera que el comerciante desconociera la finalidad del estudio, y por parte del investigador no se influyó en la elección del filete a comprar dejando que el vendedor escogiera el producto.

Tabla 12. Formato captura de datos

Captura de Datos					
Fecha	Número de Muestra	Plaza de Mercado	Origen del Filete	Especie del Filete	Peso del Filete

6.3 Identificación de parásitos de la familia Anisakidae

Después de compradas en los expendios de venta, las muestras de pescado congelado fueron transportadas inmediatamente y a temperatura de refrigeración al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia en Medellín, Colombia, para el proceso de descongelación progresiva con el fin realizar el proceso de visualización de las larvas de parásitos Anisakidos a temperatura ambiente. Una vez descongelados, los filetes se colocaron en bolsas de plástico de 14 x 20 cm transparentes y separadas, y se presionaron para obtener capas de 1 a 2 mm de espesor que se obtuvieron utilizando un dispositivo de prensado hidráulico, según método previamente publicado (Leineman *et al.*, 1993). Una vez obtenida, la capa fina del filete se inspeccionó en primera instancia con luz blanca y posteriormente bajo una fuente de luz UV de 366 nm, método ideal para muestras congeladas (Leineman *et al.*, 1993).

6.4 Determinación de género

Una vez identificadas las larvas en el filete por el método de prensado y LUV, estas se extrajeron con pinzas de disección y fueron conservadas en etanol al 70% (Kein.1982) para su identificación taxonómica posterior, la cual se realizó a partir de microscopía electrónica utilizando un Microscopio Electrónico de Barrido (termoiónico) JEOL-JSM 6490LV marca JEOL, en el laboratorio del Centro de Microscopía Electrónica de la Sede de Investigaciones Universitaria (SIU) de la Universidad de Antioquia. La identificación taxonómica se realizó teniendo en cuenta las claves taxonómicas para el género propuestas por Ishii *et al.*, 1989 (Tabla 13).

Tabla 13. Claves taxonómicas para identificación de parásitos de la familia Anisakidae.

Región	<i>Anisakis</i> spp.	<i>Pseudoterranova</i> sp	<i>Contracaecum</i> sp.	<i>Hysterothylacium</i> spp.
	L3	L3	L3	L3
Anterior Labio Diente Papila Cavidad bucal	No prominente Prominente a la parte exterior Elevadas Triangular	Ligeramente Similar a <i>Anisakis</i> Elevadas Triangular	Prominente Prominente a la parte interior Muy elevadas Tipo Hendidura	Discreto Curvo No se observan Triangular
Cutícula Surcos longitudinales Surcos transversales	Irregular Irregular	Irregular Irregular	Doble banda Irregular	Muy irregular No presenta
Posterior Mucron	Largo o curvo	Más largo que <i>Anisakis</i>	Cónico	Tipo espina

6.5 Análisis estadístico

6.5.1 Variables incluidas

Tabla 14. Variables analizadas en el estudio

Variable	Descripción de la variable	Categorías de las variables	Tipo de variable	Escala
Diagnóstico de <i>Anisakis</i>	Resultado de la prueba diagnóstica aplicada a las muestras	Ausente Presente	Cualitativa	Nominal
Género	Resultado de la evaluación de las larvas obtenidas con base en claves taxonómicas	<i>Anisakis</i> spp. <i>Pseudoterranova</i> sp. <i>Contracaecum</i> sp. <i>Hysterothylacium</i> spp.	Cualitativa	Nominal
Lugar de procedencia	Sitio geográfico de donde provenían los filetes analizados, según información del vendedor	Nacional Buenaventura Bahía Solano Santa Marta Importada Ecuador Chile	Cualitativa	Nominal
Lugar de comercialización	Sitio de compra y venta en Medellín y su área metropolitana	Plaza Minorista José María Villa, Central Mayorista de Antioquia, Placita de Flórez	Cualitativa	Nominal



Tipo de pez a evaluar	Nombre común y científico de peces muestreados	Sierra (nombre científico) Salmón (nombre científico) Atún (nombre científico) Merluza (nombre científico)	Cualitativa	Nominal
------------------------------	--	---	-------------	---------

Los datos recolectados se registraron en una base de datos que se organizó en el aplicativo Microsoft Excel 2010, asignándole un código a cada una de las variables para su posterior análisis estadístico.

Los resultados se analizaron en un inicio por medio de estadística descriptiva utilizando tablas de frecuencia. La distribución de las variables cualitativas se realizó de manera indirecta evaluando la participación proporcional de la categoría de cada variable.

Para explorar la asociación de la presencia del parásito con las variables de estudio (Lugar de origen de los filetes, lugar de comercialización y tipo de pez evaluada) se realizó un análisis bivariado por medio de Ji cuadrado con un $P < 0.05$ que se corroboró con el test exacto de Fisher. El análisis estadístico se realizó con el programa estadístico Stata 16.0 (StataCorp, Texas, USA)(StataCorp, 2019).

7 Resultados

7.1 Análisis descriptivo

El total de filetes congelados analizados para determinar la presencia de parásitos de la familia Anisakidae fue de 384, los cuales de acuerdo al análisis descriptivo presentaron los siguientes resultados:

7.1.1 Proporción de filetes congelados de acuerdo a la procedencia (nacional o importada)

Se obtuvo que el 61.20% (235/384) de las muestras analizadas son de origen nacional, el 38.80% (149/384) son de origen importado (Figura 16).

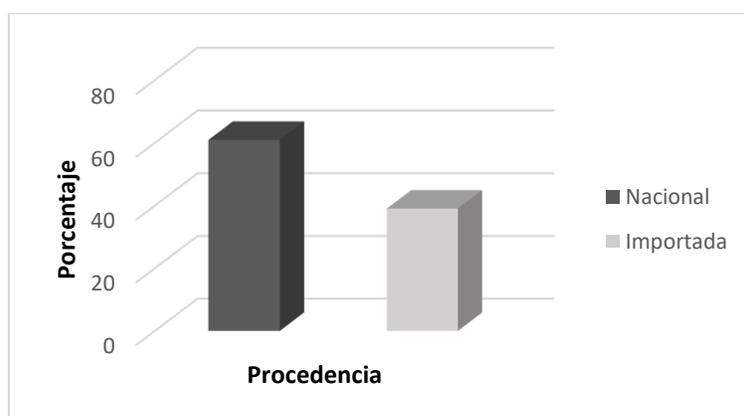


Figura 16. Porcentaje de muestras de filetes congelados de acuerdo a la procedencia (nacional o importada).

7.1.2 Proporción de filetes congelados de acuerdo al lugar de procedencia (lugar específico).

De acuerdo al lugar de procedencia específico de los filetes congelados analizados, los datos se comportaron de la siguiente manera: El mayor número de muestras provienen del puerto de Buenaventura con un 47.14% (181/384) seguido de Chile con un 35.68% (137/384), Bahía Solano 7.03% (27/384), Santa Marta 6.77% (26/384), y Ecuador 3.39% (13/384) (Figura 17).

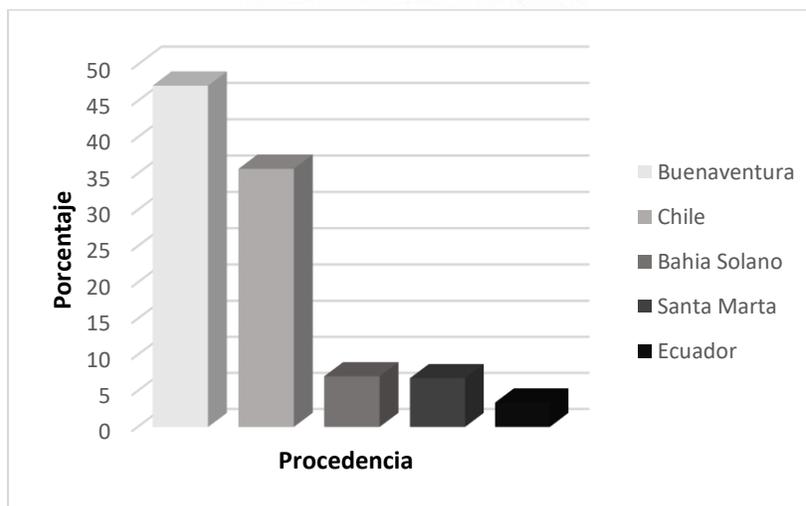


Figura 17 Porcentaje de muestras de filetes de pescado congelados de acuerdo al lugar de procedencia (lugar específico).

7.1.3 Proporción de filetes congelados de acuerdo al lugar de comercialización

El 60.94% (234/384) de los filetes congelados se obtuvieron de la plaza Minorista José María Villa, el 39.06% (150/384) se obtuvo de las plazas de mercado Central Mayorista de Antioquia y Placita de Flórez (Figura 18).

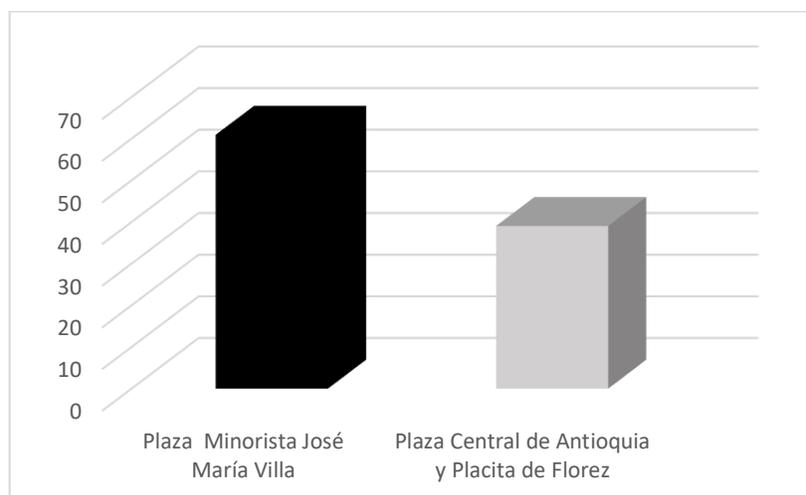


Figura 18. Porcentaje de muestras de filetes de pescado congelado de acuerdo al lugar de comercialización.

7.1.4 Proporción de filetes congelados de acuerdo al tipo de pez evaluado

El tipo de pez que se evaluó con mayor frecuencia fue *Scomberomorus spp* (Sierra) con un 51.30% (197/384). El 48.70% (187/384) restante correspondió a los tipos de pez *Merluccius merlusus* (merluza), *Thunnus spp* (Atún) y *Salmo salar* (Salmón) (Figura 19).

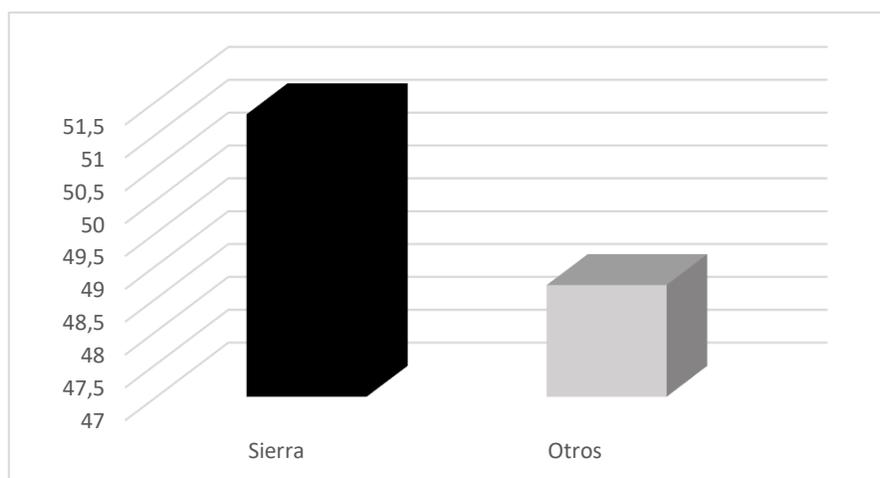


Figura 19. Porcentaje de muestras de filetes de pescado congelado de acuerdo al tipo de pez evaluado.

7.2 Resultados de acuerdo a los objetivos propuestos

7.2.1 Determinación de género

El género de las larvas encontradas se determinó como *Anisakis spp.* (Figura 20). De acuerdo a las claves taxonómicas tomadas de Ishii *et al.*, 1989. El diámetro de las larvas se estuvo entre 15 mm a 20 mm, color crema, en el examen microscópico se determinó la presencia de un mucrón, característica típica del género *Anisakis spp.* Se determinó estriaciones en su cutícula, además de identificar un diente largo, un poro excretor, un labio prominente, que por su conformación anatómica y tamaño son característicos del género. La especie de pescado en la cual se encontraron las larvas de *Anisakis spp.*, correspondió a *Scomberomorus spp.* (Sierra) proveniente del puerto de Buenaventura (lugar de procedencia nacional) (Tabla 18).

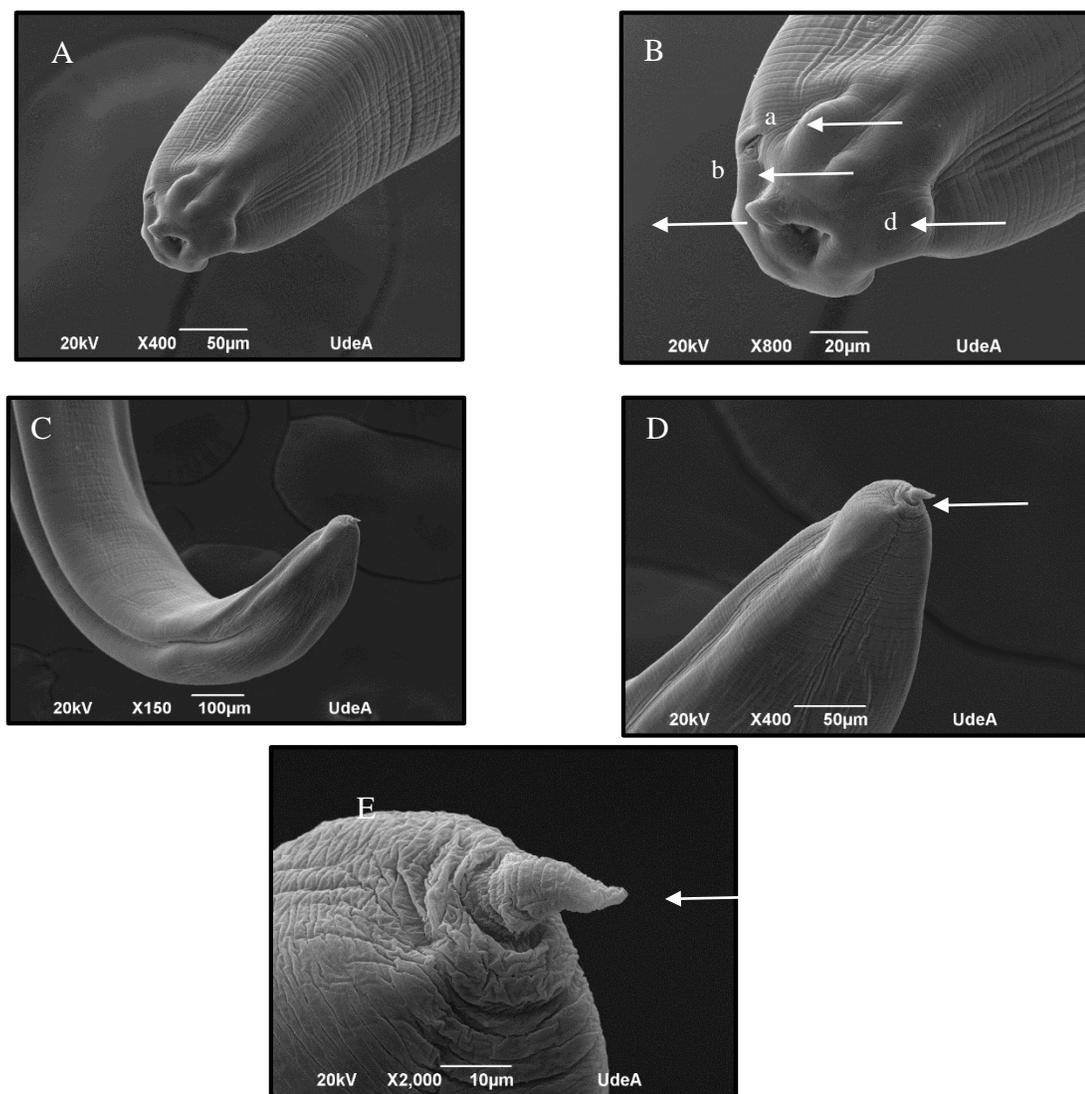


Figura 20 Microfotografías de larvas de *Anisakis* spp.

(A) y (B) porción anterior de larva de *Anisakis* spp. Se observa estructuras anatómicas en la región Anterior de la larva como lo indican las flechas a): Papilas, b): Poro excretor, c): Diente, d): labio ventral.

(C) Porción posterior de la larva, presencia de estriaciones cuticulares

(D) y (E) Porción posterior de la larva, como indican las flechas encontramos la presencia de un Mucrón.

7.2.2 Determinación de Frecuencia de parásitos del género *Anisakis* spp.

Del total de filetes de pescado congelado analizados (n=384), cuatro (4) contenían larvas, cada una de ellas se encontró en un filete diferente con lo cual se estableció una frecuencia de *Anisakis* spp. de 1.04% (4/384) (CI 95%: +/- 1.01) (Tabla 15).

Tabla 15. Resultados de presencia/ausencia de *Anisakis* spp.

Diagnóstico	Frecuencia	Porcentaje	IC 95%
Ausencia	380	98,96	
Presencia	4	1,04	1,04±1,01

7.2.3 Reconocimiento de Asociaciones entre la presencia de *Anisakis* spp. y las variables de estudio

La presencia de *Anisakis* spp. según las variables de estudio arrojó los siguientes resultados: de acuerdo al lugar de procedencia se observó que la positividad 1.73% (4/231), fue encontrada en filetes de procedencia nacional, de acuerdo al lugar de comercialización 1.73% (4/230), en la Plaza Minorista José María Villa y de acuerdo al tipo de pez 2.03% (4/197) (Tabla 18) la sierra presento el hallazgo. No se encontró asociación estadística entre la presencia de *Anisakis* spp. y las variables de estudio (i.e. lugar de procedencia, lugar de comercialización y tipo de pez) (Tabla 16).

Tabla 16. Distribución de *Anisakis* spp. en muestras de filetes de pescado crudo congelado (n=384) colectados en tres plazas de mercado de la ciudad de Medellín y su área metropolitana (Antioquia, Colombia).

Variable	Categoría	Diagnóstico de Anisakidos		Total (%)	Asociación		IC 95%
		Positivo (%) ⁴	Negativo(%)		$\chi^2 =$	Fisher	
Lugar de procedencia	Nacional ¹	4 (1.73)	231 (98.29)	235 (61,19)	0.107	0.05	1.73 ± 1.30
	Importada ²	0	149 (100)	149 (38,81)			
Lugar de comercialización	Plaza Minorista José María Villa	4 (1.73)	230 (98.29)	234 (60.93)	0.109	0.068	2.03 ± 1.40
	Plaza Central Mayorista de Antioquia	0	150 (100)	150 (39.07)			
	Placita de Flórez						
Tipo de pez	Sierra	4 (2,03)	193 (97,96)	197 (51,30)	0.050	0.068	2.03 ± 1.40
	Otros ³	0	187 (100)	187 (48,70)			

¹ Buenaventura, Bahía Solano, Santa Marta

² Ecuador, Chile

³ *Salmo salar* (Salmón), *Thunnus spp* (Atún), *Merluccius merlusus* (merluza)

⁴ Positividad a parásitos del genero *Anisakis* spp. según técnica de visualización de larvas por medio del método de prensado y luz ultravioleta

8 Discusión

El presente estudio tuvo como objetivo determinar parásitos de la familia Anisakidae en filetes de pescado crudo congelado destinados a consumo humano, que se comercializan en Medellín y su área metropolitana. Según el conocimiento de los autores, este es el primer estudio realizado en el área de Medellín- Colombia utilizando el método de identificación larval con luz UV.

La presencia de *Anisakis* spp. en productos para consumo humano se ha reportado a nivel mundial, con frecuencias que van desde el 21% al 75%,(Serrano *et al.*, 2016;Torres *et al.*, 2014; Guardone *et al.*, 2018; Torres *et al.*, 2014) la identificación de las larvas se ha realizado utilizando digestión enzimática como la prueba de oro para identificación de larvas vivas en pescado fresco y la técnica de observación con luz UV a partir del método de prensado como prueba de oro para identificación de larvas muertas en filetes congelados (Serrano *et al.*, 2016;Torres *et al.*, 2014;Guardone *et al.*, 2018).

Los hallazgos encontrados en el presente estudio se consideran relativamente bajos en comparación con estudios realizados a nivel mundial y a nivel país, donde se ha reportado frecuencias que pueden ir desde el 18 al 100% (Castellanos *et al.*, 2018; Olivero *et al.*,2008) en productos que se analizaron en fresco, en lugares de puerto y desembarque y en cuencas de ríos, esta situación no permite comparar de manera directa los datos del presente estudio ya que la forma de identificación difiere mucho con respecto a la utilizada en el presente estudio. Además se conoce que la probabilidad de encontrar larvas en filetes de pescado congelado, es mucho menor que la probabilidad de encontrar larvas en vísceras (Klapper *et al.*, 2015), lo que explicaría la baja frecuencia encontrada. Sin embargo, este es el primer estudio que se realiza inspeccionando filetes congelados comercializados en distintas plazas de mercado, con un diseño proporcional con base en las especies que se comercializan en Medellín y su área metropolitana, por lo que en cualquier caso, los presentes resultados demuestran la existencia del parásito en pescado congelado que está disponible para la venta en plazas de mercado, lo que permite suponer un potencial riesgo de exposición parasitaria para el ser humano.



En el presente estudio se utilizó la técnica de prensado y observación con luz UV, esta prueba cuenta con una alta probabilidad de detectar la presencia de larvas en filetes congelados (sensibilidad y especificidad 99%)(Gómez *et al.*, 2018), contribuyendo de una manera económica eficaz y certera a la identificación de parásitos como los de la familia Anisakidae que representan riesgo para la salud pública. Estudios similares al presente utilizaron el método mencionado, detectando cuatro larvas de *Histerotilacium* (Levsen *et al.*, 2018) en las muestras analizadas identificando que los cristales de la congelación contribuyen a la liberación de lipofuscina una enzima que genera reacción con la luz UV (Levsen *et al.*, 2018), este es un método ideal para identificar especies como *Anisakis* cuando se requiere evaluar volúmenes y lotes grandes que van a comercialización para consumo humano y que se encuentran congelados (Pública, 2006).

En la presente investigación fue posible identificar la presencia de larvas de *Anisakis* spp. a partir del método con luz UV, esto pudo determinar la presencia de parásitos Anisakidos los cuales se encuentran circulando en Medellín y su área metropolitana, lo que resulta ser relevante, ya que hasta el momento no se contaban con estudios previos que reportarán el estado de esta parasitosis en el departamento de Antioquia. De esta manera a partir de esta investigación se pudo establecer mediante análisis taxonómico de las larvas encontradas que los parásitos que se encontraron en los filetes de pescado congelado pertenecen al género *Anisakis* spp, dentro de este género se encuentran las especies de mayor importancia para el ser humano debido a la sintomatología alérgica y digestiva que producen (Moreira *et al.*, 2010). El presente hallazgo concuerda con lo encontrado por Castellanos *et al.*, 2018 y Olivero *et al.*, 2008 quienes taxonómicamente han identificado la presencia del género *Anisakis* spp circulando en las costas Pacífica y Atlántica de Colombia además de otros géneros que son representativos en el campo de la salud pública, desde el punto de vista epidemiológico esto es representativo ya que la distribución de las diferentes especies de peces para consumo provienen de los lugares donde se evidencia el hallazgo, lo cual podría suponer que son especies potencialmente riesgosa en el campo la salud pública si se consumen crudas o poco cocidas en el caso de estar contaminados con la larva o sus desintegrados. (Mattiucci *et al.*, 2018)



En el presente estudio se pudo establecer que no se encontraron asociaciones con respecto a las variables analizadas, esto pudo ser resultado de la baja frecuencia encontrada. Sin embargo, los resultados demostraron presencia de *Anisakis* spp. en especies como la Sierra y ausencia de ellas en especies como el Atún, el Salmón y la Merluza, lo cual puede explicarse debido a que estas dos últimas especies son especies importadas de países donde se hace control riguroso a partir de normas y resoluciones que permiten la inspección de los filetes antes de ser llevadas al país de destino (FAO 2015), a diferencia de las muestras de filetes nacionales, para los cuales la norma de vigilancia y control solo se centra en determinar cantidad de mercurio y análisis microbiológico en las diferentes especies de pescado (Ministerio de Protección Social, 2008).

Los filetes que se analizaron provienen en su mayoría del puerto de Buenaventura, lugar donde se ha reportado el parásito en frecuencias muy altas en distintas especies para consumo humano (Castellanos *et al.*, 2018). Además, los métodos de pesca en Colombia son principalmente artesanales (Moreno, 2018), lo que incrementa la posibilidad de que se vendan pescados contaminados con parásitos como *Anisakis* spp. debido a que se comercializan sin control e inspección visual de las autoridades sanitarias.

De acuerdo al análisis de las variables, el presente estudio reporta la presencia de larvas de *Anisakis* spp. en filetes de Sierra provenientes del puerto de Buenaventura, lo que permite catalogarla como una especie potencialmente riesgosa al consumirse cruda en preparaciones como el ceviche (Lucano *et al.*, 2011). El reporte en esta especie concuerda con lo encontrado en México, donde se demostró que la sierra del Pacífico es una de las especies más susceptibles de presentar *Anisakis* spp. (Lerena *et al.*, 2018), cabe resaltar que la forma de captura, comercialización y hábitat de este tipo de especie en países como México es similar a los procesos que se realizan en Colombia, y que la presencia de larvas puede estar supeditada al tiempo que tardan en eviscerar desde la captura hasta el desembarque.



9 Conclusiones

- El presente estudio es el primero en desarrollarse en el departamento de Antioquia en filetes de pescado congelados listos para consumo humano, encontrando positividad en sus hallazgos con una frecuencia de *Anisakis* spp de 1.04%
- De acuerdo al diseño del estudio se pudo evidenciar la presencia de estructuras parasitarias compatibles con la familia Anisakidae en filetes de pescado congelado.
- La presencia de estructuras parasitarias en filetes congelados de pescado demuestra un posible riesgo para los consumidores, por consecuencia es relevante en el campo de la salud pública.
- Nuestro estudio permite establecer que el pez Sierra (*Scomberomorus* spp.) es una de las especies de agua salada que podría ser susceptible a la presencia larvas del género *Anisakis* spp.
- El filete de pescado congelado no está exento de portar larvas de parásitos de la familia Anisakidae y de representar un riesgo potencial para la salud pública.



10 Recomendaciones

- Considerar este estudio como punto de partida para especies piscícolas procedentes del pacífico colombiano, intensificando la búsqueda de parásitos en especies como la Sierra (*Scomberomorus* spp).
- Considerar aumentar el tamaño de la muestra para generar nuevos estudios que permitan determinar factores de riesgo a la presencia de parásitos de la familia Anisakidae.
- Generar procesos de capacitación a Médicos veterinarios, Médicos, preparadores y consumidores con el fin de que se conozca el comportamiento de la enfermedad y el adecuado manejo de materias primas de origen íctico.
- Realizar estudios en campo en el ser humano para determinar el comportamiento epidemiológico de la enfermedad en Colombia.
- Realizar estudios moleculares que permitan dilucidar la situación de parásitos de la familia Anisakidae en ausencia de larvas.



11 Perspectivas de investigación

En definitiva, se requiere realizar más estudios en especies provenientes del Pacífico colombiano y que son incluidas en las preparaciones a base de pescado crudo. Además, es imperativo ampliar las posibilidades de diagnóstico a partir de pruebas moleculares que detecten la presencia de ADN en ausencia de larvas, o que sirvan como complemento diagnóstico en estudios que presenten baja frecuencia de larvas, como ocurrió en el presente estudio, esto permitiría valorar con mayor rigurosidad el riesgo para la salud pública.

Si bien el diagnóstico molecular sería una técnica difícil de implementar en la industria pesquera si puede servir de gran ayuda en la identificación del parásito por medio de proyectos de investigación que permitan evidenciar el potencial problema que se tendría para personas sensibilizadas a la presencia del parásito.



12 Referencias Bibliograficas

- Adroher-Auroux, F. J., & Benites Rodriguez, R. (2020). Anisakiasis and *Anisakis*: An underdiagnosed emerging disease and its main etiological agents. *Research in Veterinary Science*, 535-545. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.08.003>
- Aibinu, I. E., Smooker, P. M., & Lopata, A. L. (2019). *Anisakis* Nematodes in Fish and Shellfish- from infection to allergies. *International journal for parasitology. Parasites and wildlife*, 9, 384–393. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2019.04.007>
- Anderson, R. (2000). *Nematode Parasites of Vertebrates*. Canada: Wallingford, Oxon, Reino Unido; Nueva York, NY: CABI Pub., C2000.
- Audícana Berasategui, M.T., Del Pozo Gil, M.D., Daschner, Á., (2007). Alergia al *Anisakis simplex*, in: SEAIC (Ed.), *Tratado de Alergología e Inmunología Clínica*. Ergón, pp. 1–25.
- Audicana, M. T., & Kennedy, M. W. (2008). *Anisakis simplex*: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. *Clinical microbiology reviews*, 21(2), 360–379. <https://doi.org/10.1128/CMR.00012-07>.
- Audícana, M.T., Ansotegui, I.J., Fernández de Corres, L., Kennedy, M.W., 2002. *Anisakis simplex*: dangerous - dead and alive? *Trends Parasitol.* 18, 20–25. [https://doi.org/10.1016/S1471-4922\(01\)02152-3](https://doi.org/10.1016/S1471-4922(01)02152-3)
- Audícana, M.T., Fernández de Corres, L., Muñoz, D., Fernández, E., Navarro, J.A., del Pozo, M.D., (1995). Recurrent anaphylaxis caused by *Anisakis simplex* parasitizing fish. *J. Allergy Journal Pre-proof Journal Pre-proof* 21 *Clin. Immunol.* 96, 558–560.



- Berland, B. (1989). Identification of larval nematodes from fish, p. 16-22. In H. Möller [ed.] Nematode problems in North Atlantic fish. Report from a workshop in Kiel, 3-4. April 1989. ICES Mariculture Comm. C.M. 1989/F: 6.
- Bilska - Zając, Ewa & Różycki, Mirosław & Chmurzyńska, Ewa & Karamon, Jacek & Sroka, Jacek & Kochanowski, Maciej & Kusyk, Paweł & Cencek, Tomasz. (2015). Parasites of Anisakidae Family—Geographical Distribution and Threat to Human Health. *Journal of Agricultural Science and Technology*. <https://doi.org/10.17265/2161-6256/2015.02A.010>
- Bilska-Zając, E., Lalle, M., Różycki, M., Chmurzyńska, E., Kochanowski, M., Karamon, J., Sroka, J., Pozio, E., & Cencek, T. (2016). High prevalence of Anisakidae larvae in marketed frozen fillets of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*). *Food Control*, 68, 216-219. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.03.049>
- Buchmann, Kurt & Mehrdana, Foojan. (2016). Effects of anisakid nematodes *Anisakis simplex* (s.l.), *Pseudoterranova decipiens* (s.l.) and *Contracaecum osculatum* (s.l.) on fish and consumer health. *Food and Waterborne Parasitology*. 4. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2016.07.003>.
- Gago Cabezas, L., Garcia Iglesias, E., Fernandez Nuevo, J. L., & Gonzalez Izquierdo, J. M. (2006). Detection and Inactivation Methods of *Anisakis simplex*, and Diseases yhat this parasites produces. Spain: Biotechnology Innovation Circle,
- Cabrera, Rufino, & Trillo-Altamirano, María Del Pilar. (2004). Anisakidosis: ¿Una zoonosis parasitaria marina desconocida o emergente en el Perú?. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 24(4), 335-342. Recuperado en 03 de septiembre de 2020, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292004000400006&lng=es&tlng=es.



Castellanos, Jenniffer Alejandra, Santana-Piñeros, Ana María, Mercado, Rubén, Peña, Sebastián, Pustovrh, Carolina y Cruz-Quintana, Yanis. (2018) Presencia de larvas de anisakidos en peces comerciales desembarcados en la costa del Pacífico de Ecuador y Colombia. *Infectio*, 22 (4), 206-212. <https://dx.doi.org/10.22354/in.v22i4.739>.

Castellanos-Garzón, J. A., Falla-Zúñiga, L. F., Salazar, L., & Pustovrh-Ramos, M. C. (2020). Anisákidos y anisakidosis: generalidades y su actualidad en Colombia. Revisión bibliográfica. *Iatreia*, 33(2), 143-154. <https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.47>

Choi, S. J., Lee, J. C., Kim, M. J., Hur, G. Y., Shin, S. Y., & Park, H. S. (2009). The clinical characteristics of *Anisakis* allergy in Korea. *The Korean journal of internal medicine*, 24(2), 160–163. <https://doi.org/10.3904/kjim.2009.24.2.160>

Colás Ruiz, E., Lasala Gausa, M. A., García García, E., Fernández Font, J. M., Martín Cavanna, J., & Fernández Cebrián, J. M. (2017). *Anisakis* and colonic polyp, a rare association. *Anisakis* y pólipo en colon, una asociación infrecuente. *Gastroenterología y hepatología*, 40(1), 21–23. <https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2015.10.011>

Degese, M. F. (Marzo de 2015). Identificación molecular de nematodes Anisákidos de impacto en la salud pública. Argentina.

Dirección de Investigación, Desarrollo, Innovación y Transferencia Tecnológica - DIDITT Perú. (2018). Vigilancia Tecnológica e Inteligencia Competitiva. https://www.itp.gob.pe/archivos/vtic/PESCA_002-2018.pdf (April 16, 2019).

FAO, Organización para las naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación. (2015). Programa conjunto fao/oms sobre normas alimentarias comité del codex sobre higiene de los alimentos.



FAO. 2018. "El Consumo de Pescado En América Latina y El Caribe Crecerá Un 33% Para 2030, FAO." <http://www.fao.org/americas/noticias/ver/es/c/1144411/>.

Fernández-Delgado, F. J., Martínez-Castillo, R., Lasanta-Melero, B., Gaitero-Reina, C., & Domínguez-Escobar, J. F. (2015). Infección por *Anisakis* con presentación atípica: a propósito de un caso [*Anisakis* infection with atypical presentation: Report of a case]. *Semergen*, 41(3), 176–177. <https://doi.org/10.1016/j.semerg.2014.02.010>

Field-Cortazares, Jorge, and Roberto Calderón-Campos. (2009). Intoxicación por *Anisakis*. *Bol Clin Hosp Infant Edo Son* 26(1): 43–47.

García López Luisa, Martín Manuel Esteban, Rodríguez Artalejo Fernando, Rodríguez Ferri Elías. (2005). http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/informes_comite/ANISAKIS_ALERGIA.pdf.

García-García, José Antonio, Arturo Reding-Bernal, and Juan Carlos López-Alvarenga. (2013). Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica. *Investigación en Educación Médica* 2(8): 217–24.

Gómez-Morales, Maria & Martínez-Castro, Cristina & Lalle, Marco & Otero, Rosa & Pezzotti, Patrizio & Abollo, Elvira & Pozio, Edoardo. (2018). UV-press method versus artificial digestion method to detect *Anisakidae* L3 in fish fillets: Comparative study and suitability for the industry. *Fisheries Research*. 202. 22-28. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2016.12.011>

González Quijada S, González Escudero R, Arias García L, Gil Martín AR, Vicente Serrano J, Corral Fernández E. Manifestaciones digestivas de la anisakiasis: descripción de 42 casos. *Rev Clin Esp*. 2005; 205 (7): 311-5.

- Guardone, L., Nucera, D., Lodola, L. B., Tinacci, L., Acutis, P. L., Guidi, A., & Armani, A. (2018). *Anisakis spp.* larvae in different kinds of ready to eat products made of anchovies (*Engraulis encrasicolus*) sold in Italian supermarkets. *International journal of food microbiology*, 268, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.030>
- Herrador, Z., Daschner, Á., Perteguer, M. J., & Benito, A. (2019). Epidemiological Scenario of Anisakidosis in Spain Based on Associated Hospitalizations: The Tip of the Iceberg. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 69(1), 69–76. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy853>
- Hochberg, N. S., & Hamer, D. H. (2010). Anisakidosis: Perils of the deep. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 51(7), 806–812. <https://doi.org/10.1086/656238>
- Hurst, R.J. (1984). Identification and description of larval *Anisakis simplex* and *Pseudoterranova decipiens* (Anisakidae: Nematoda) from New Zealand waters. *N. Z. J. Mar. Freshwater Res.* 18:177-186.
- Iglesias, Raúl, Florencio M. Ubeira. (2008). Riesgos y medidas preventivas en relación con el consumo de pescado parasitado por *Anisakis*. *alimentaria* (November 2015): 62–68.
- Ishii Y., Fujino T., Weerasooriya M.V. (1989) Morphology of Anisakine Larvae. In: Ishikura H., Namiki M. (eds) *Gastric Anisakiasis in Japan*. Springer, Tokyo.
https://doi.org/10.1007/978-4-431-68290-5_4
- Ishikura, H., Kikuchi, K., Nagasawa, K., Ooiwa, T., Takamiya, H., Sato, N., & Sugane, K. (1993). Anisakidae and anisakidosis. *Progress in clinical parasitology*, 3, 43–102.
https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2732-8_3



- Karl, H, and M Leineman. (1993). A Fast and Quantitative Detection Method for Nematodes in Fish Fillets and Fishery Products. *Archiv für Lebensmittelhygiene* 44(5): 124–25 <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2016.07.003>.
- Kasuya, S., Hamano, H., Izumi, S., (1990). Mackerel-induced urticaria and *Anisakis*. *Lancet* 335, 665. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(90\)90455-E](https://doi.org/10.1016/0140-6736(90)90455-E)
- Keim, Albert. 1982. Manual de métodos parasitológicos e histopatológicos en piscicultura. proyecto FAO/PNUD/URU/78/005. <http://www.fao.org/3/AC566S/AC566S02.htm> (April 22, 2020).
- Klapper, R., Kuhn, T., Münster, J., Levsen, A., Karl, H., & Klimpel, S. (2015). Anisakid nematodes in beaked redfish (*Sebastes mentella*) from three fishing grounds in the North Atlantic, with special notes on distribution in the fish musculature. *Veterinary parasitology*, 207(1-2), 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.11.017>.
- Klimpel, Sven & Palm, Harry. (2011). Anisakid Nematode (Ascaridoidea) Life Cycles and Distribution: Increasing Zoonotic Potential in the Time of Climate Change?. [https://doi.org 10.1007/978-3-642-21396-0_11](https://doi.org/10.1007/978-3-642-21396-0_11)
- Lerena, Medina Miriam Susana, and Christian Daniel Estrada Esparza, Efraín Pérez Torres, Miguel Ángel Pérez Ramírez, Janeth Araceli Hernández Orozco, Gustavo Espinoza Estrada. (2018). Presencia de Parásitos En Pescado En El Mercado Local de La Zona Metropolitana de Guadalajara. *e-CUCBA* 10: 21–26. <http://e-cucba.cucba.udg.mx/index.php/e-Cucba/article/view/117/113> (March 27, 2020). <https://doi.org/10.32870/e-cucba.v0i10.117>.



Arne, L., Svanevik, C. S., Cripiani, P., Mattiucci, S., Gay, M., Hastie, L. C. Pierce, G. J. (2018). A survey of zoonotic nematodes of commercial key fish species from major European fishing grounds—Introducing the FP7 PARASITE exposure assessment study. *Fisheries Research*, 4-21.

<https://doi.org/10.1016/j.fishres.2017.09.009>

Levsen, Arne, and Amund Maage. (2016). Absence of Parasitic Nematodes in Farmed, Harvest Quality Atlantic Salmon (*Salmo Salar*) in Norway - Results from a Large Scale Survey. *Food Control* 68(May): 25–29. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.03.020>.

López-Serrano, M.C., Gómez, A.A., Moreno-Ancillo, A., Daschner, A., de-Parga, J.M. (2000). Anisakiasis gastro-alérgica: hipersensibilidad inmediata debida a la parasitación por *Anisakis simplex*. *Alergol. Inmunol. Clin.*, 15: 230-236.

Lucano-Ramírez G, S Ruiz-Ramírez, FI Palomera-Sánchez, G González-Sansón. (2011). Reproductive Biology of the Pacific Sierra Scomberomorus Sierra (Pisces, Scombridae) in the Central Mexican Pacific (Pacifictle). *Ciencias Marinas* 37(3)(ISSN 0185-3880): 249–60. <http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/> (April 23, 2020).

Mattiucci, S., Cipriani, P., Levsen, A., Paoletti, M., & Nascetti, G. (2018). Molecular Epidemiology of *Anisakis* and Anisakiasis: An Ecological and Evolutionary Road Map. *Advances in parasitology*, 99, 93–263. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2017.12.001>

Mattiucci, S., Cipriani, P., Levsen, A., Paoletti, M., & Nascetti, G. (2018). Molecular Epidemiology of *Anisakis* and Anisakiasis: An Ecological and Evolutionary Road Map. *Advances in parasitology*, 99, 93–263. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2017.12.001>



- Mattiucci, S., Cipriani, P., Levsen, A., Paoletti, M., & Nascetti, G. (2018). Molecular Epidemiology of *Anisakis* and Anisakiasis: An Ecological and Evolutionary Road Map. *Advances in parasitology*, 99, 93–263. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2017.12.001>
- Moravec, F., Kohn A., Fernandes B.M. (1993). Nematode parasites of fishes of the Paraná River, Brazil. Part 2. Seuratoidea, Ascaridoidea, Habronematoidea and Acuarioidea. *Folia Parasitol.* 40:115-134.
- Mur, Ana Cristina Osanz. (2001). Presencia de larvas de anisákidos (nematoda: ascaridoidea) en pescado de consumo capturado en la zona pesquera de tarragona. Uiversidad Autónoma de Barcelona. <https://core.ac.uk/download/pdf/13276846.pdf> (April 16, 2019).
- Nieuwenhuizen N. E. (2016). *Anisakis* - immunology of a foodborne parasitosis. *Parasite immunology*, 38(9), 548–557. <https://doi.org/10.1111/pim.12349>
- . Olivero Verbel., J., Baldiris Avila., R., & Corporación Autónoma Regional del Canal del Dique . (2008). *Parásitos en peces colombianos: Están enfermando nuestros ecosistemas?*. Cartagena. Cartagena: Alpha impresores Ltda.
- Palm, Harry. (1999). Ecology of *Pseudoterranova decipiens* (Krabbe, 1878) (Nematoda : Anisakidae) from Antarctic waters. *Parasitology research*. 85. 638-46. [https://doi.org 10.1007/s004360050608](https://doi.org/10.1007/s004360050608).
- Pampiglione, Silvio & Rivasi, Francesco & Criscuolo, Mario & Benedittis, Anna & Gentile, Antonia & Russo, Silvana & Testini, Mario & Villan, Michele. (2002). Human Anisakiasis in Italy: A Report of Eleven New Cases. *Pathology, research and practice*. 198. 429-34. [https://doi.org 10.1078/0344-0338-00277](https://doi.org/10.1078/0344-0338-00277)



Pardo Manuel Vicente, José. 2016. El *Anisakis* y Sus Enfermedades Como Enfermedad Profesional. Medicina y Seguridad del Trabajo 62. <http://scielo.isciii.es/pdf/mesetra/v62n244/inspeccion.pdf>

Patiño, John A, Mario J Olivera. 2019. Anisakiasis Gastro-Alérgica, Primera Descripción de Un Caso En Colombia y Revisión Bibliográfica. Biomedica 39. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v39i2.3936>

Pinheiro, R., Furtado, A. P., Santos, J., & Giese, E. G. (2019). Contracaecum larvae: morphological and morphometric retrospective analysis, biogeography and zoonotic risk in the amazon. Revista brasileira de parasitología veterinaria = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria, 28(1), 12–32. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612019002>

Ponce, Olivares Fabiola Otilia. (2012). Efecto sobre los alérgenos de las larvas 13 de *Anisakis* al aplicar tratamientos selectivos en pescado parasitado. Universidad Complutense de Madrid

Pública, D. X. (2006). *Anisakiosis y Alergia un estudio seroepidemiologico en la Comunidad Autonoma Gallega*. Obtenido de <http://www.aefa.es/wp-content/uploads/2014/04/Anisaquiosis.-epidemiolog%C3%ADa-profilaxis-diagn%C3%B3stico-y-tratamiento.pdf>

Quijada, Jessica & Lima dos Santos, Carlos Alberto & Avdalov, N.. (2005). Enfermedades parasitarias por consumo de pescado. Incidencia en América Latina. INFOPECA Int.. 24. 16-23.

Restrepo-Betancurt, Luis Fernando, Rodríguez-Espinosa, Holmes, & Valencia-Y, Daniel. (2016). Caracterización del consumo de pescado y mariscos en población universitaria de la ciudad



de Medellín - Colombia. *Universidad y Salud*, 18(2), 257-265. Retrieved September 03, 2020, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-71072016000200007&lng=en&tlng=es.

Rodriguez-Morales, Alfonso. (2016). Infecciones Tropicales en ORL. <https://www.researchgate.net/publication/303061969> (December 27, 2019).

Seesao, Y., Audebert, C., Verrez-Bagnis, V., Merlin, S., Jérôme, M., Viscogliosi, E., Dei-Cas, E., Aliouat-Denis, C. M., & Gay, M. (2014). Monitoring of four DNA extraction methods upstream of high-throughput sequencing of Anisakidae nematodes. *Journal of microbiological methods*, 102, 69–72. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.05.004>

Shiraki, T. 1974: Larval nematodes of family Anisakidae (Nematoda) in the Northern Sea of Japan — as a causative agent of eosinophilic phlegmone or granuloma in the human gastrointestinal tract. *Acta medica et biologica* 22 : 57-98.

Shiraki, T.; Otsuru, M. 1968: Morphological observations on the Anisakinae larvae found in marine fishes especially on *Terranova* sp. larva and *Contraecaecum*-type larva. *Japanese journal of parasitology* 17: 36.

StataCorp. 2019. *Stata Statistical Software: Release 16*. College Station, TX: StataCorp LLC.” <https://www.stata.com/support/faqs/resources/citing-software-documentation-faqs/> (May 17, 2020).

Thiel van, p., Kuipers, f. c., & Roskam, r. t. (1960). A nematode parasitic to herring, causing acute abdominal syndromes in man. *tropical and geographical medicine*, 12, 97–113.



- Tokiwa, T., Kobayashi, Y., Ike, K., Morishima, Y., & Sugiyama, H. (2018). Detection of Anisakid Larvae in Marinated Mackerel Sushi in Tokyo, Japan. *Japanese journal of infectious diseases*, 71(1), 88–89. <https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2017.280>
- Torres, P, Puga, S, Castillo, L, Lamilla, J, & Miranda, JC. (2014). Helminths, myxozoos and microsporidiosis in muscles of commercialized fresh fish and its importance as a potential risk to human health in the city of Valdivia, Chile. *Archivos de medicina veterinaria*, 46(1), 83-92. <https://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2014000100012>
- Torres-Frenzel, P., & Torres, P. (2014). Anisakid parasites in commercial hake ceviche in southern Chile. *Journal of food protection*, 77(7), 1237–1240. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-538>
- Ubeira, F.M., Valiñas, B., Lorenzo, S., Iglesias, R., Figueiras, A., García-Villaescusa, R. (2019). Documentos Técnicos de Saúde Pública Serie B. No 24 Un Estudio Seroepidemiológico Na Comunidade Autónoma Galega.
- Villafruela Cives, M., & Henríquez Santana, A.. (2010). Anisakiasis. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 102(3), 216. Recuperado en 03 de septiembre de 2020, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082010000300010&lng=es&tlng=es.
- Zubeldia JM, Baeza ML, Jáuregui I, Senent C (2012). Libro de las enfermedades alérgicas. España; Fundación BBVA/SEAIC Fundación.

