

Technology watch report



Detection and Inactivation Methods of *Anisakis simplex* and Diseases that this parasite produces

Report developed upon request of ADEPESCA association



Authors:

Lara Gago Cabezas
Esther García Iglesias
Jose Luis Fernández Nuevo
Jose Manuel González Izquierdo

**Biotechnology Innovation Circle
Madrid Science Park**



The CIBT (Biotechnology Innovation Circle) is an initiative of Madrid regional government. Spanish National Research Council (CSIC), Madrid Autónoma University (UAM) and Madrid Complutense University (UCM) participate in the project, managed by Madrid Science Park (PCM).

Acknowledgements:

- Julio Maroto Leal
Technology Area of Fishery Products. Centro Tecnológico del Mar
- Santiago Pascual del Hierro
Ecology and Biodiversity marine Group. Instituto de Investigaciones Marinas (IIM-CSIC).

Summary

This report has been done upon request of ADEPESCA association and described the *Anisakis* problem in the fishery industry. It introduces the inactivation and detection methods of *Anisakis* and illness that these worms produce in humans. The report contains research groups, projects and patents related to *Anisakis*.

The anisakid roundworms (also known as nematode) include a relatively complex life cycle involving first a free-living stage and later the use of multiple hosts. The eggs released from the mature worms passed into the faeces of marine mammals acting these ones as the definitive hosts. The eggs sink to the sea floor and hatch into second-stage larvae within days or weeks depending on the water temperature. These larvae then rely upon ingestion by marine crustaceans in order to facilitate their continued development into the third-stage. When the crustacean is eaten by a fish or squid the larvae migrate into the tissues of this second intermediate host and develop to the advanced third-stage on the viscera or in the muscle. When an infected fish is eaten by a definitive host such as a marine mammal, the larvae are released into the stomach or intestine where they undergo further moults, developing into fourth-stage larvae and eventually adults. Humans can only be considered accidental hosts in this life cycle, and have no influence on the transmission of these parasites.

The amount prevalence of *Anisakis* larvae in fish fillets varies considerably among the size groups of each species. It exists various nematode detection methods: digestion, ultraviolet light illumination simple visual test and the most used and the commonly recommended method in the fish processing industry is known as candling consisting in a brief visual inspection on a light table. However, candling is not good enough to detect the majority of the nematodes that are present in the fillets of pelagic fish.

Anisakis larvae are killed in 1 minute at a temperature of above 60°C. Therefore cooking a fillet of 2,5 cm thick for 10 minutes at 60°C will kill any worms present. The temperature of a cold smoking process is not high enough to kill parasites, but in a commercial hot smoking process a high enough temperature is usually maintained long enough to kill them.

On the other hand, to eat safely raw fish it is necessary to kill *Anisakis* parasite before. There are various methods to kill them. The two most used are the high pressure processing and the irradiation. However, the commonly recommended method is freezing of fish at - 20°C for 48-72 hours before to eat the raw fish.

The round worms have been the cause of human illness transmitted by the ingestion of live *Anisakis* larvae. Therefore, the parasite can produce an allergy response in humans.

Informe de Vigilancia Tecnológica realizado para la asociación ADEPESCA

Métodos para la detección e inactivación de *Anisakis simplex* y patologías que produce.

Índice

1.	Antecedentes	4
2.	Introducción	5
3.	Técnicas para la detección de <i>Anisakis simplex</i> en pescado	9
3.1.	Examen visual simple	9
3.2.	Transiluminación	9
3.3.	Iluminación con luz ultravioleta	11
3.4.	Digestión	11
3.5.	Diferencia de conductividad	12
4.	Métodos para prevenir la presencia <i>Anisakis simplex</i> en el pescado y métodos para su inactivación	14
4.1.	Medidas previas a la comercialización del pescado	14
4.2.	Métodos para la inactivación de <i>Anisakis simplex</i> en pescado	14
4.2.1.	Tratamientos térmicos	14
4.2.2.	Aplicación de alta presión hidrostática	17
4.2.3.	Succión por vacío	18
4.2.4.	Electrocución	18
4.2.5.	Otros métodos de inactivación	19

5.	Legislación relacionada con <i>Anisakis simplex</i> en pescado	22
6.	Patologías causadas por <i>Anisakis simplex</i> : anisakiasis y alergia	23
6.1.	Descripción de las diferentes patologías	23
6.2.	Diagnóstico	26
6.2.1.	Diagnóstico del parasitismo	26
6.2.2.	Diagnóstico de la alergia	26
6.3.	Tratamiento	28
7.	Resumen y conclusiones	30
8.	Referencias	32
Anexo I	Grupos y proyectos de investigación	36
Anexo II	Patentes	43
Anexo III	Procesos culinarios para destruir la larva de <i>Anisakis</i>	46
Anexo IV	Presencia de <i>Anisakis</i> en peces consumidos en España	48
Anexo V	Metodología de Vigilancia Tecnológica	49

1. Antecedentes

La **Asociación de Empresarios Detallistas de Pescados y Productos Congelados de la Comunidad de Madrid (ADEPESCA)** está interesada en conocer los métodos para la detección e inactivación de *Anisakis simplex* en el pescado así como las patologías humanas que produce este parásito.

El **Círculo de Innovación en Biotecnología (CIBT)** se compromete a la realización de un informe de vigilancia tecnológica sobre esta temática con la finalidad de recopilar los métodos que están disponibles en el mercado o en vías de desarrollo para la detección e inactivación de la larva de *Anisakis simplex*. En este documento también se revisa la normativa vigente sobre las inspecciones requeridas para prevenir la comercialización de pescado contaminado y las últimas investigaciones sobre las patologías que produce este parásito en el hombre.

Además, en el informe se consideran otros aspectos importantes dentro del sector de la pesca en relación con *Anisakis simplex* como son: la recopilación de las patentes y solicitudes de patente que tratan sobre los métodos de detección y eliminación de la larva, la identificación de los grupos de investigación cuyas actividades se centran en el estudio de *Anisakis simplex* en relación con las patologías que produce y con los métodos para destruirlo así como los proyectos de investigación realizados en los últimos años.

Asimismo, se adjunta como anexo al informe una breve descripción de la metodología empleada para la elaboración del mismo en la que se incluyen: buscadores científicos, revistas especializadas, bases de datos sobre patentes, proyectos de investigación, grupos de investigación y ayudas y subvenciones.

Del presente informe de vigilancia tecnológica sobre "Métodos para la detección e inactivación de *Anisakis simplex* y patologías que produce" se realizan tres copias, una de ellas se entrega a la asociación solicitante y las otras dos se depositan en Parque Científico de Madrid y en la Comunidad de Madrid respectivamente a efectos de inspección.

2. Introducción

El pescado es un producto esencial en la dieta mediterránea que aporta proteínas de alta digestibilidad y tiene un alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados (omega-3) que producen efectos beneficiosos en el organismo. No obstante, al igual que muchos otros alimentos puede contener agentes patógenos que afectan a la seguridad alimentaria. (1)

Se conocen multitud de parásitos capaces de infestar a los animales que habitualmente sirven de alimento al hombre y que tras su consumo producen diferentes patologías humanas. Éste es el caso de los peces y cefalópodos marinos parasitados por la larva de *Anisakis simplex*. Cuando el hombre consume pescado crudo parasitado sin prestar la debida precaución puede desarrollar enfermedades como la anisakiasis (también conocida como anisakidosis, que es la enfermedad producida por cualquier integrante de la familia *Anisakidae*).

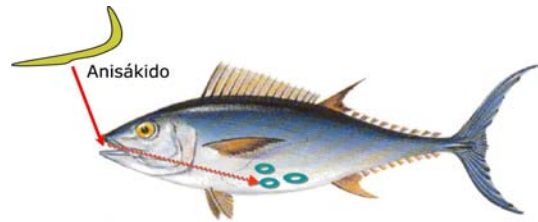


Figura 1. Pez parasitado por *Anisakis simplex*

Dado que los *Anisakis* se encuentran en el mar, los peces que se desarrollan en agua dulce (excepto el salmón, que permanece periodos de tiempo el mar) no se ven afectados por este parásito.

Anisakis simplex

El *Anisakis simplex* es un parásito de la clase *Nematoda*, familia *Anisakidae*, género *Anisakis*. Además de este género (del que se conocen cuatro especies, entre las que se encuentra *A. simplex*) hay otros dos parásitos de esta familia que también pueden infestar a los animales marinos son: *Pseudoterranova decipiens* y *Contracaecum osculatum*.

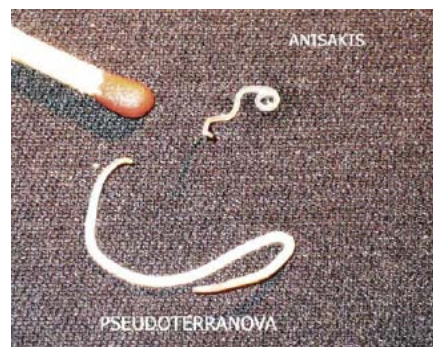


Figura 2. Comparación entre una larva de *Anisakis* y de *Pseudoterranova*

En cuanto a la **morfología** de los anisákidos se puede decir que tienen un cuerpo vermiforme, sección redondeada, falta de segmentación y cavidad corporal estrecha. Poseen una cavidad bucal que se encuentra en el lado anterior, rodeada de proyecciones que utilizan para alimentarse. La epidermis segrega una cutícula en capas, que protege al cuerpo de condiciones extremas. (1) (2)

La larva de *Anisakis simplex* es de color blanquecino (cuando están encapsuladas en el músculo de los peces su color puede pasar a pardo) y tiene una longitud de 18-36 milímetros

y un diámetro de 0.24-0.6 milímetros. Dentro de su estructura se pueden diferenciar la cutícula exterior (que es transversalmente estriada), la hipodermis, los sistemas musculares contráctiles y no contráctiles, el pseudocelomado y los sistemas nervioso, excretor y digestivo. (3) (4)

La cutícula está formada por tres regiones diferentes constituida por nueve capas. Superficialmente está cubierta por una capa lipídica. La región exterior está formada por colágeno, queratina y pequeñas cantidades de otros compuestos como la polifenol-oxidasa y la proteína quinona. Por último, la matriz de la cutícula está compuesta por albúmina y proteínas fibrosas similares a la elastina junto con pequeñas cantidades de glúcidos, lípidos y enzimas esterases. (4)

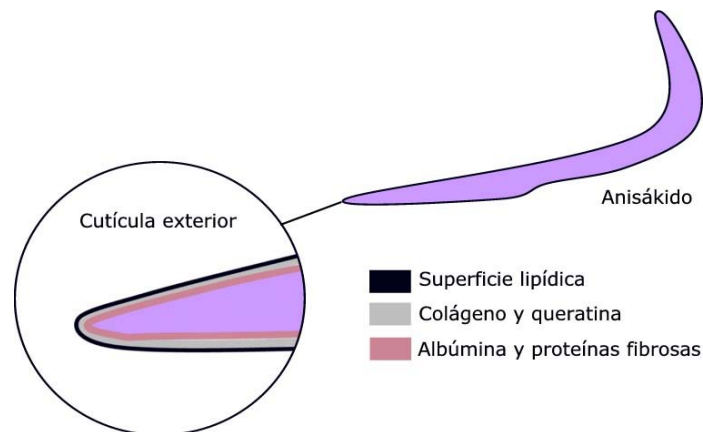


Figura 3. Cutícula de *Anisakis simplex*

El ciclo biológico característico de los *Anisakis*, que todavía no se ha definido completamente, consta de cuatro estadios larvales y un estadio adulto.

El primer estadio larvario (L1) se forma en los huevos expulsados al mar a través de las heces de los hospedadores definitivos (mamíferos marinos y grandes peces). Tras constituirse el primer estadio larvario tienen lugar dos mudas: segundo estadio larvario (L2) y tercer estadio larvario (L3). A continuación los huevos eclosionan y salen al exterior las larvas L3 que conservan la cutícula del segundo estadio larvario hasta que las ingieren ciertos crustáceos planctónicos. Las larvas pueden vivir en el agua del mar de tres a cuatro semanas a una temperatura entre 13 y 18 ° C y de seis a siete semanas entre 5 y 7° C, aumentando la mortalidad por encima de 20° C.

Los crustáceos, que constituyen el primer hospedador intermediario, son ingeridos por peces y cefalópodos (hospedador paraténico).

Las larvas pueden transitar varias veces de un pez o cefalópodo a otro que a su vez son ingeridos por grandes mamíferos o peces marinos. En estos últimos se constituye el último estadio larvario (L4) y finalmente se establece la forma adulta de *Anisakis*. Los adultos liberan los huevos al exterior a través de las heces del hospedador definitivo, cerrándose así el ciclo biológico. (1) (5) (6) (7)

El tercer estadio larvario (L3), que se puede encontrar enquistado (enrollado en espiral plana) en el músculo y en las vísceras de los peces y cefalópodos, es el típicamente infectivo para los seres humanos, que son hospedadores accidentales.

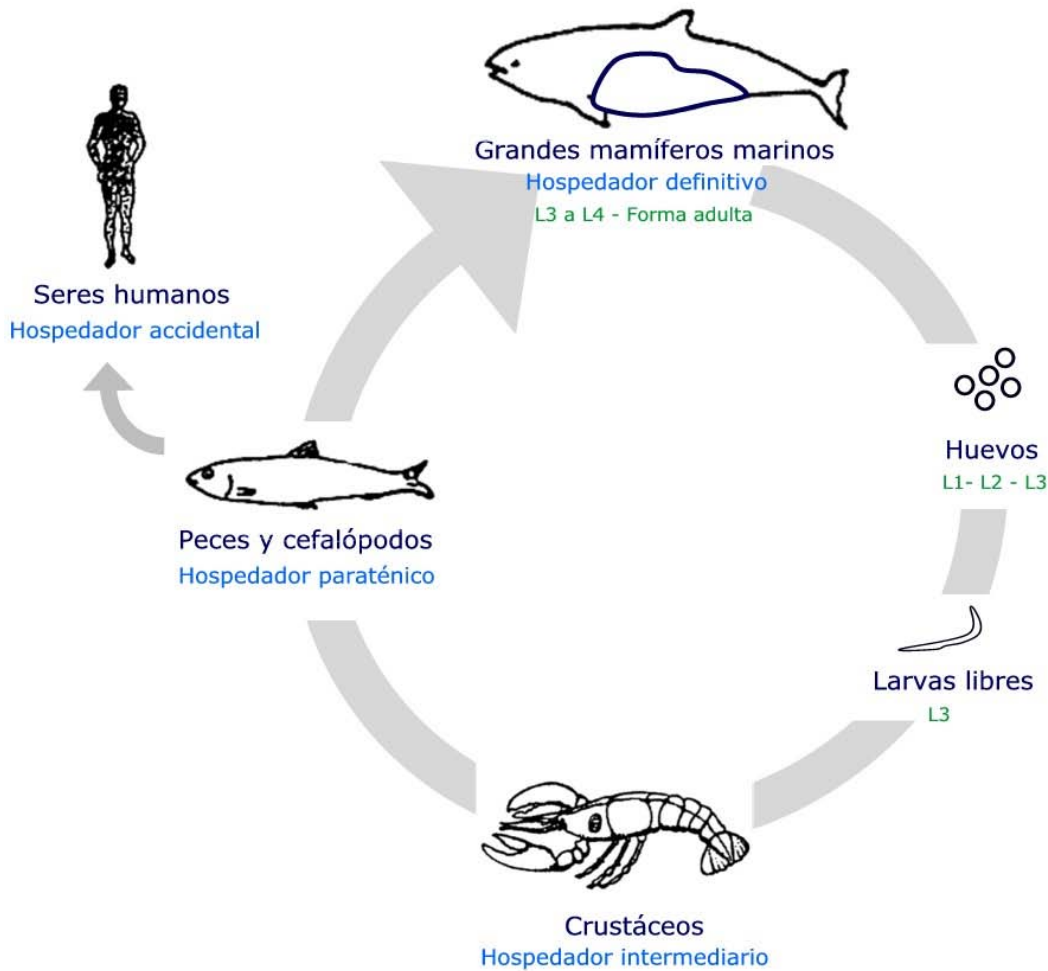


Figura 4. Ciclo biológico del *Anisakis simplex*

La anisakiasis humana, en sentido estricto, es la infestación mediada por larvas *Anisakis* que parasita el tejido muscular y vísceras de algunos peces y cefalópodos. El parasitismo humano es accidental y se produce cuando se consumen estos animales marinos con la larva viable. No obstante, normalmente se utiliza este término en sentido más amplio, incluyendo también otros géneros como el *Pseudoterranova* y el *Contracaecum*. (8)

La anisakiasis es una patología que se ha estudiado profundamente en Japón y Holanda debido a que su dieta habitual incluye pescado crudo, ahumado o con un tratamiento térmico de baja intensidad. El primer caso de anisakiasis en España se reconoció hace poco más de una década, lo que no quiere decir que en nuestro país no se diera este tipo de parasitismo antes, sino que se confundía con otros desórdenes gastrointestinales. Hasta entonces no se sospechaba que algunos pescados cotidianos que formaban parte de la dieta de los españoles eran responsables de reacciones alérgicas y parasitismo humano. (5)

En nuestro país existen varias especies de peces que pueden actuar como vectores de transmisión al hombre. Entre ellas se pueden destacar la bacaladilla, la merluza y el boquerón. No obstante, el aumento del número de casos declarados en España puede

deberse a la incorporación en la dieta de platos preparados con pescado crudo o poco cocinado (5). En el anexo IV se han recopilado datos sobre los valores demográficos de infestación de diferentes especies de pescado consumidos habitualmente en España.

Para destruir los parásitos que se encuentran en el pescado se han descrito algunos métodos. Los métodos térmicos son los más eficaces, lo que implica que en los países donde hay tradición de consumir el pescado cocido o frito el número de casos de anisakiasis es muy bajo. La congelación, -20° C durante al menos 24 horas, es la medida más eficaz para destruir las larvas de *Anisakis* en aquellos países donde tradicionalmente se consume el pescado crudo o poco cocinado (aunque en investigaciones recientes se indica que el tiempo debe incrementarse a 48-72 horas (3) (9)). No obstante, es de vital importancia que los pescadores tomen las debidas precauciones para que los parásitos se destruyan en la medida de lo posible después de capturarse y no produzcan enfermedades. Es prácticamente imposible eliminar estos parásitos de las poblaciones de peces no criadas mediante acuicultura, porque los factores ecológicos que determinan las infestaciones parasitarias escapan del control humano. (1)

3. Técnicas para la detección de *Anisakis simplex* en pescado

Existe una preocupación creciente causada por la presencia de larvas de nemátodos anisákidos en el pescado debido a que son una fuente importante de riesgo sanitario y un factor negativo en cuanto al aspecto comercial de los productos de la pesca. Por este motivo tanto la industria alimentaria como ciertos grupos de investigación han dirigido sus esfuerzos hacia el estudio de métodos de detección y control que reduzcan o eliminen totalmente la presencia de larvas viables de *Anisakis* en el pescado o en sus derivados antes de su comercialización. Para ello desarrollan procedimientos que permitan detectar las larvas en la pieza de pescado ya sea para eliminarlas o para controlar su presencia retirando lotes muy contaminados.

Actualmente se pueden utilizar varios métodos para determinar la infestación con larvas de *Anisakis simplex* en el músculo o en las vísceras del pescado, aunque la mayoría de ellos exigen deteriorar la pieza en su totalidad. Hoy en día se tiende a desarrollar y perfeccionar los sistemas de detección automática. Son métodos que utilizan una fuente de energía que incide sobre la muestra y, a través de un detector y una imagen, muestra los parásitos que infestan el pescado. No obstante, hoy por hoy escasea este tipo de métodos para la detección de larvas de *Anisakis*. Los más utilizados se muestran a continuación.

3.1 Examen visual simple (1) (2) (10)

El examen visual simple es el método más sencillo para detectar las larvas de *Anisakis simplex*. Consiste en la realización de una búsqueda de las larvas en las vísceras y en el músculo del pescado mediante cortes de un espesor de 5 milímetros aproximadamente. Para ello se utilizan tijeras y pinzas.

Según algunos estudios mediante este método solamente se consiguen detectar el 45-83% de las larvas ubicadas en el músculo de algunos tipos de pescado. No es aconsejable para examinar piezas de pescados de gran tamaño, como la merluza.

Ventajas:

- Es un método muy sencillo.
- No requiere equipos especiales ni personal especializado.

Inconvenientes:

- Este método es poco eficaz.
- No es adecuado para detectar las larvas presentes en grandes piezas de pescado.
- No distingue entre parásitos vivos y muertos.

3.2 Transiluminación (*Candling* en inglés) (1) (2) (10) (11)

Este método se utiliza ampliamente para detectar parásitos en la musculatura de los peces. Consiste en proyectar una fuente luminosa por la parte inferior del pescado, normalmente con ayuda de mesas iluminadas.

La manera más simple de llevar a cabo este método es utilizar una caja de vidrio esmerilado o de pexiglás de unos 50 centímetros cuadrados y unos 6 milímetros de espesor. La parte interior ha de estar provista de dos tubos fluorescentes que proporcionen luz blanca. Se debe tener en cuenta que el sistema eléctrico debe estar preparado para soportar condiciones de alta humedad, debe estar ventilado y ser resistente a salpicaduras.

El modo de utilización consiste en fijar el filete de pescado sobre la caja, que estará iluminada. Las larvas se presentan como sombras oscuras en la carne y se pueden extraer con unas pinzas o cuchillas. La luz que ilumine la caja por la parte superior debe limitarse (no puede estar directamente en contacto con la luz solar). Según documentos de la FDA (*Food and Drug Administration*) de Estados Unidos un operario experto puede manejar hasta 300 filetes por hora, aunque debido a la fatiga ocular no puede estar mucho tiempo, ya que con el paso de las horas la eficiencia decae. (10)

Desafortunadamente, en un estudio reciente se considera que esta técnica tiene baja eficacia ya que con ella solamente se detecta de un 7 a un 10% de las larvas presentes en filetes de pescado infestados. (12)

Para realizar este proceso es necesario:

- Las muestras, desprovistas de la piel, se han de cortar en láminas de 30 milímetros de grosor como máximo.
- Si el pescado está empanado se ha de sumergir en una disolución de lauril sulfato sódico al 2% a 50° C hasta que éste desaparezca.
- Si el pescado está congelado se debe descongelar para utilizar esta técnica.

Como los parásitos se muestran opacos, este método es muy recomendable para pescados con musculatura blanquecina.



Figura 5. Operarios realizando la transiluminación para detectar larvas de *Anisakis simplex*

Ventajas:

- Generalmente no es un método destructivo.
- Es un método relativamente rápido.
- No requiere equipos costosos ni personal especializado.

Inconvenientes:

- Este método tiene baja eficacia.
- No es adecuado para pescado con carne pigmentada.
- No distingue entre parásitos vivos y muertos.
- Es difícil de automatizar.
- Los operarios no pueden trabajar varias horas seguidas.
- Es una técnica que no se puede aplicar sobre una pieza entera de pescado.

3.3 Iluminación con luz ultravioleta (1) (2) (11)

Este método es muy similar al anterior, pero en vez de luz blanca se utiliza luz ultravioleta a una longitud de onda de 366 nm. Para llevarlo a cabo es necesario que el operario esté provisto de una pantalla facial de protección o de unas gafas de seguridad. Es imprescindible ejecutarlo en una habitación oscura.

El procedimiento consiste en hacer incidir luz ultravioleta a unos diez centímetros de distancia sobre la superficie del filete de pescado (por ambos lados). Mediante este método se pueden distinguir las larvas de *Anisakis* y de *Pseudoterranova*, que se muestran de un color fluorescente azulado y las de *Contracaecum*, que aparecen en amarillo. Las espinas y tejido conectivo también se muestran azulados, pero se puede distinguir de los parásitos dada su rigidez y su distribución uniforme.

Ventajas:

- Generalmente no es un método destructivo.
- Es un método relativamente rápido.
- Es adecuado para visualizar y extraer los nematodos del pescado con carne pigmentada.

Inconvenientes:

- Para una mayor eficacia requiere que se congele y descongele la muestra.
- Es muy difícil una automatización.
- No distingue entre parásitos vivos y muertos (11). No obstante, según algunos autores los parásitos vivos no brillan. (1) (2)
- Es una técnica que no se puede aplicar sobre una pieza entera de pescado.

3.4 Digestión (1) (2)

Esta técnica consiste en reproducir las condiciones físico-químicas del estómago de los mamíferos para recuperar la mayoría de las larvas existentes en el pescado mediante una digestión de la musculatura que lo rodea.

El método de digestión permite encontrar la mayoría de las larvas. En él se somete a la muestra de pescado a la acción de una disolución digestiva. Para ello es importante la concentración de ácido clorhídrico, la pepsina y la temperatura de la mezcla de digestión. Es complicado y minucioso cuando se trata de especies de pescado grandes y se requiere recuperar la totalidad de las larvas.

Básicamente el método consiste en tomar una muestra de pescado, sumergirla en una disolución con pepsina y ácido clorhídrico a pH 2 e incubarla a unos 37° C con agitación suave (100rpm) aproximadamente 24 horas o hasta que la digestión alcance un nivel aceptable. Después la muestra se pasa por una malla y se observan los restos que quedan retenidos (larvas del parásito). También hay que prestar atención al filtrado y a cualquier resto de carne que quede sin digerir.

Para comprobar la viabilidad de las larvas se deben trasladar con cuidado a placas de Petri que contengan una nueva disolución de pepsina. Las placas se colocan en una cubeta de examen al trasluz a menos de 37° C. Los *Anisakis* viables muestran movimientos o reacciones espontáneas cuando son punzados suavemente con agujas de disección. No obstante, una simple relajación de los nematodos (que ocurre a veces) no es señal de viabilidad. Los nematodos deben mostrar un movimiento espontáneo. (13)

Ventajas:

- Es una técnica muy eficaz.
- Distingue entre parásitos vivos y muertos.

Inconvenientes:

- Es una técnica tediosa y cara (11).
- Es inadecuada para aplicarse en inspecciones industriales a gran escala. Solamente se recomienda para el examen de un pequeño número de especímenes y para búsquedas precisas.
- Es una técnica destructiva.

3.5 Diferencia de conductividad (14) (15)

Este método de detección se basa en la diferencia que existe entre la conductividad del músculo del pescado y los nematodos que lo parasitan. Por ejemplo, la conductividad del músculo de bacalao es al menos 2000 veces mayor que la del *Anisakis*. Esta diferencia de conductividad indica que las propiedades eléctricas del músculo y del nematodo se pueden utilizar para detectar los parásitos.

Se han publicado dos patentes en las que se describe este método: WO93/14400 y WO5289123. En la segunda se ha desarrollado un método que podría utilizarse como un sistema comercial automatizado para detectar larvas de *Anisakis simplex*. A continuación se describe este método.

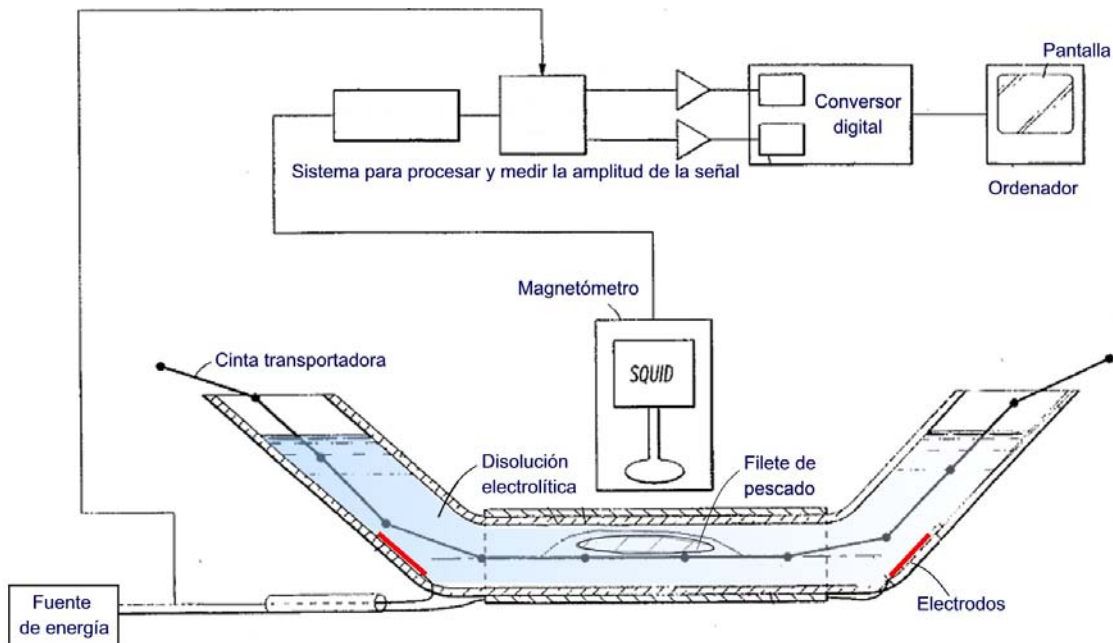


Figura 6. Sistema automático de detección de *Anisakis simplex*

En primer lugar se sumergen los filetes de pescado en una disolución electrolítica de conductividad eléctrica similar a la del pescado. Después se hace pasar una corriente eléctrica a través de la disolución y del pescado que genera un campo magnético continuo.

El pescado, siempre sumergido, se sujeta con una malla de nylon y se conduce a través de una cinta transportadora. En la parte superior de la cinta se colocan unos magnetómetros para medir el campo magnético (prioritariamente de interferencia cuántica superconductora, SQUID). Estos dispositivos se instalan de forma estacionaria e inspeccionan uno a uno los filetes transportados por la cinta.

Cuando el pescado está infestado por parásitos el magnetómetro detecta perturbaciones en el campo magnético y transfiere una señal que por medio de un sistema que la procesa, la amplifica y la almacena en formato digital se puede ver a través de la pantalla de un ordenador.

Ventajas:

- Es una técnica muy eficaz.
- Se puede automatizar y realizarla de forma continua y en línea.

Inconvenientes:

- Requiere equipos especiales.
- No hay muchos estudios sobre esta técnica por lo que dificulta su implementación.
- No se pueden inspeccionar piezas de pescado con la piel, a no ser que se introduzcan algunos parámetros que lo contemplen en el sistema.

Esta tecnología se encuentra disponible en la Oficina de Transferencia Tecnológica de la Universidad de Vanderbilt de Estados Unidos (www.vanderbilt.edu/technology_transfer).

Título de la tecnología: *SQUID: Improved Techniques for Detecting Fish Parasites.*

Código de la tecnología: VU9418.

Investigadora responsable: *Rampyari Walis.*

Gestora: Janis Elsner

Correo: janis.elsner@vanderbilt.edu.

4. Métodos para prevenir la presencia *Anisakis simplex* en el pescado y métodos para su inactivación.

La eliminación y destrucción de las larvas de *Anisakis* antes de la comercialización del pescado para evitar las enfermedades que causa este parásito es una tarea difícil si se pretende dejar intacta la pieza de pescado. Además de los métodos de eliminación de las larvas, la prevención es esencial para disminuir el número de afectados.

4.1. Medidas previas a la comercialización (2) (16)

La medida más eficaz para disminuir el riesgo de padecer anisakiasis es la prevención. Para ello, se pueden tomar unas medidas preventivas antes de la comercialización.

La mayoría de los nematodos que parasitan el pescado se encuentran en las vísceras, aunque una pequeña parte puede migrar a la musculatura. Cuanto antes se eviscere el pescado después de capturarlo menor cantidad de parásitos pasará a la musculatura.

Una vez se haya realizado la evisceración, cuando los desperdicios se devuelven al mar sería conveniente destruir las larvas (congelación, altas temperaturas, electrocución, etc.) para que no infesten a otros bancos de peces.

A modo de resumen, las medidas preventivas son las siguientes:

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

En la patente [ES2223261](#) se desarrolla un método mediante el cual se eviscera y desparasita el pescado en alta mar y a continuación se destruyen las larvas de *Anisakis* por acción de la temperatura antes de devolverlas al mar con el resto de desechos.

4.2. Métodos para la inactivación de la larva de *Anisakis simplex* en el pescado

El consumo de pescado bien cocinado no conlleva ningún problema ya que las larvas no resisten las altas temperaturas. Si se desea consumir el pescado poco cocinado o crudo es necesario tomar ciertas precauciones para destruir los posibles parásitos presentes en él. Algunos de los tratamientos descritos a continuación son suficientes para destruir las larvas de *Anisakis*.

4.2.1 Tratamientos térmicos

La larva del *Anisakis* está formada por una cubierta muy resistente, pero soporta solamente unos segundos temperaturas superiores a 60° C e inferiores a -20° C. No obstante, como este parásito está incrustado en el tejido interno del pescado es necesario incrementar el tiempo de exposición para que la temperatura interior de la pieza alcance los valores adecuados.

Congelación

La congelación es un método de conservación de alimentos que se basa en la aplicación de bajas temperaturas que detiene el desarrollo de los microorganismos alterantes en los alimentos y destruye los parásitos. Parece que este proceso altera la cutícula de los anisákidos con su consiguiente desaparición. Por ello, la congelación ofrece buenos resultados en cuanto a la inactivación de *Anisakis simplex*. Para que sea efectiva es necesario que la temperatura interna del pescado permanezca a un mínimo de -20°C durante al menos durante 24 horas. A este tiempo hay que sumar el invertido en el proceso de congelación, que dependerá del sistema de congelación y de la cantidad de producto a congelar. Esta práctica se especifica en la normativa europea (Reglamento 853/2004). No obstante, en investigaciones recientes se refleja que es más adecuado que el pescado permanezca de 48 a 72 horas para garantizar la muerte de la larva. (3) (9)

En Estados Unidos se sugiere una congelación que alcance al menos los -20°C durante 7 días, o bien al menos -35°C durante 15 horas. No obstante, resulta algo más complicado disponer de sistemas de congelación que enfríen la parte interna del producto a -35°C .

Importancia del proceso de congelación en cuanto a la calidad final del pescado.

El inicio de la congelación depende en gran medida de la concentración de las sustancias disueltas en el agua que contiene el pescado. Una vez que el agua comienza a congelarse, la cristalización está en función de la velocidad de enfriamiento.

- Si la velocidad es lenta, los núcleos de cristalización serán pocos y los cristales de hielo tendrán una superficie grande lo que puede provocar que se rompan las células del alimento, produciendo una pérdida de agua en la descongelación.
- Si la velocidad de congelación es mayor, el número de cristales aumenta y su tamaño disminuye, minimizando el daño sobre las membranas celulares células del pescado y como consecuencia el exudado en la descongelación.

Una congelación lenta puede llevar consigo una pérdida calidad, mientras que una congelación rápida permite preservar la textura del alimento, dado que se pierde menos agua en el proceso de descongelación.

Además de la congelación convencional existen otras alternativas para congelar piezas de pescado fresco de alto valor añadido (como el *sushi* y *sashimi*) que se deseen consumir crudas. La denominada **ultracongelación** es una congelación rápida y es el mejor procedimiento de aplicación de frío ya que los cristales de hielo que se forman durante el proceso son más finos y regulares dentro de las células, por lo que el daño en los tejidos del alimento se minimiza y se reduce la pérdida de agua en el proceso de descongelación.

Algunos tipos de ultracongelación son la **congelación criogénica** y la **congelación asistida por alta presión**. La primera se realiza con líquidos a muy bajas temperaturas y alta velocidad, por aspersion o inmersión. Los refrigerantes que habitualmente se utilizan son el nitrógeno líquido (-196°C) y el anhídrido carbónico líquido (-79°C). Este tipo de congelación permite mantener la estructura celular del alimento casi intacta (las pérdidas por deshidratación son de aproximadamente 0.1 a 1% mientras en los sistemas tradicionales pierden entre un 5 y 10 %). La segunda consiste en congelar el alimento mientras se aplica una presión más elevada que la atmosférica de forma constante. De este modo se consigue que el agua congelada tenga un menor volumen específico. Utilizando este método se obtienen tiempos de congelación reducidos, aunque la capacidad de retención de agua y el color pueden

empeorar comparados con la congelación a presión atmosférica debido a las desnaturalizaciones proteicas que se producen (17).

Ventajas

- Se destruye el parásito, por lo que se puede consumir el pescado crudo o poco cocinado sin peligro de infestación.
- Es un método al alcance de todo el mundo.
- Existen métodos como la ultracongelación que prácticamente no dañan la estructura del pescado y resultan muy apropiados para el consumo de pescado crudo como el *sushi* y *sashimi*.

Inconvenientes

- Si la congelación no se realiza correctamente puede dañar las membranas del pescado, haciendo que pierda calidad al descongelarse.
- Los equipos de ultracongelación suponen una inversión elevada.

Alta temperatura

Las larvas de *Anisakis* no son resistentes a temperaturas por encima de los 60° C. Se han llevado a cabo numerosos estudios en los que se ha experimentado con varias condiciones de temperatura y tiempo. Según alguno de ellos las larvas son capaces de sobrevivir hasta 78 minutos a 45° C, pero solamente un segundo a 60° C. No obstante, si se tiene en cuenta el espesor del pescado donde están inmersas las larvas, se ha calculado que es necesario aplicar unos 60° C de 10 a 12 minutos por pulgada (2,54 cm) de grosor.(2)

El **ahumado** de los filetes de pescado es efectivo si se realiza por encima de 62.8° C. Por lo tanto el ahumado en frío (temperatura interior del pescado inferior a 60° C) no es un tratamiento que garantice la ausencia de larvas activas en el pescado. (2)

En cuanto al calentamiento con horno **microondas** hay varios estudios que muestran la viabilidad de las larvas a diferentes temperaturas. Parece ser que las larvas mueren cuando la temperatura interna del pescado alcanza los 77° C. (18)

En la tabla 1 se muestran los resultados de un estudio con filetes de pescado (166-467 g. de peso y 0.5-1.75 cm de grosor) calentados con un microondas de 700W al máximo de potencia. (18)

Temperatura de tratamiento	Supervivencia
60° C	31 %
65° C	11 %
71° C	2 %
77° C	0 %

Tabla 1. Supervivencia de las larvas de *Anisakis* en un tratamiento con microondas

Para averiguar la supervivencia, tras el calentamiento los filetes se sometieron a una disolución del 1% de pepsina y se observó la cutícula con un microscopio.

El centro tecnológico AZTI-Tecnalia ha realizado un estudio (19) en el que se evalúan los tiempos requeridos para destruir las larvas de *Anisakis* presentes en varios despieces de la merluza para diferentes procesos culinarios. En el **anexo III** se recopilan los datos obtenidos.

En la tabla 2 se pueden observar los resultados de un estudio reciente sobre el modo en que afectan diferentes temperaturas a la larva de *Anisakis* en cuanto al tiempo necesario para que se inactive por digestión.

Temperatura de tratamiento	Tiempo de tratamiento	Tiempo de digestión
No tratadas	-	(no afectada tras 48h)
-20° C	24 h	15 h
60 ° C	15 min.	7 h
-20° C/60° C	24 h/15 min.	3 h

Tabla 2. Digestión *in vitro* de larvas de *Anisakis* tratadas con diferentes temperaturas y tiempos.

Los datos muestran la importancia de la combinación de tratamientos en los que se aplique frío y calor para deteriorar la cutícula de la larva y que ésta sea más sensible a la digestión. Los resultados indican que una temperatura de -20° C durante 24 horas no es suficiente para destruir las larvas de *Anisakis*, pero se debe tener en cuenta que el estudio no se ha realizado con humanos, sino con animales de experimentación (9).

Ventajas

- Los tratamientos con calor son muy adecuados para el consumo de pescado cocinado.
- Es accesible a todos los consumidores.

Inconvenientes

- No soluciona el problema para un consumo de pescado crudo.

4.2.2. Aplicación de alta presión hidrostática

El empleo de altas presiones en los alimentos es una tecnología que reduce la carga de agentes patógenos que contaminan un alimento. La eliminación de parásitos es una de las posibilidades que ofrece esta tecnología.

Su modo de acción consiste en someter al alimento a una elevada presión en una cámara de presurización durante un tiempo determinado (de minutos a horas). La presión se transmite de manera uniforme, independientemente del tamaño, forma y composición del alimento. Esta presión la genera una bomba y se transmite a través de un medio, generalmente agua a la que se añaden modificadores como lubricantes y anticorrosivos. Cuando ha transcurrido el tiempo de tratamiento la cámara se despresuriza, se vacía y se prepara para el siguiente ciclo. Los alimentos pueden tratarse ya envasados, siempre que los envases sean de materiales flexibles, o directamente si el alimento es líquido.

Algunas investigaciones apuntan a que la tecnología de altas presiones es un método alternativo no térmico para destruir *Anisakis* y que es más efectivo si el proceso se hace en varios ciclos de compresión-descompresión (20).

Temperatura	Tiempo	Presión	Referencia
10° C	180 s	207 MPa	(21) (22)
10° C	90 s	276 MPa	(21) (22)
10° C	30 to 60 s	414 MPa	(21) (22)
0-15° C	600 s	200 MPa	(20)
0-15° C	3600 s	140 MPa	(20)
0-15° C	600 s	120 MPa	(20)

Tabla 3. Tiempos y presiones de procesado mínimo para inactivar las larvas de *Anisakis*

Ventajas

- Es una tecnología que altera mínimamente las propiedades organolépticas (excepto el color)
- Resulta 100% efectivo en cuanto a la mortalidad de las larvas si se aplican los tiempos y procesos incluidos en la tabla 3.

Inconvenientes

- Es una tecnología cara, por lo que solo se aplicaría a productos de alto valor añadido.
- Afecta levemente al color de peces pigmentados.

4.2.3. Succión por vacío

La succión por vacío consiste en introducir una boquilla en la cavidad abdominal del pescado para succionar tanto los parásitos como el resto de las vísceras que hayan quedado después de la evisceración. Éstos se van acumulando en un tanque en el que se destruyen térmicamente mediante agua caliente o vapor para evitar la propagación de los parásitos. También se puede recurrir a la trituración para destruir la larva en vez de la temperatura. Para ello el tamaño de corte ha de ser inferior al tamaño del parásito.

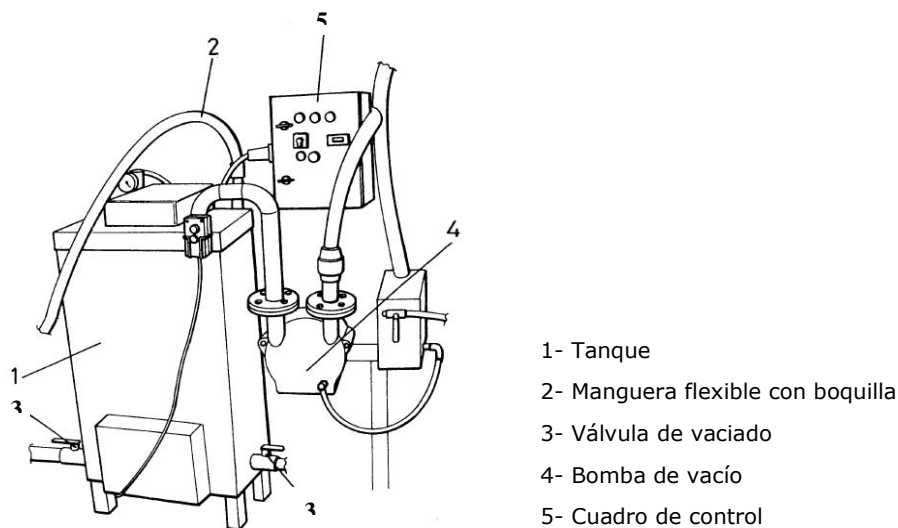


Figura 7. Máquina para eliminar por succión y destruir las larvas de *Anisakis simplex*

Este dispositivo está diseñado para utilizarse en un barco inmediatamente después de la evisceración. Además, al tratarse térmicamente los residuos succionados por la máquina se previene la propagación de la larva al arrojar los restos al mar.

Con esta máquina, patentada (ES 2223261) por el Fondo de Regulación y Organización del Mercado de los Productos de la Pesca y Cultivos Marinos (FROM) en el 2006, se puede evitar que la larva de *Anisakis* migre masivamente del estómago a la musculatura de los peces, siempre y cuando se utilice con la rapidez necesaria. Los prototipos han costado aproximadamente unos 4.800 €, pero se espera que la fabricación industrial reduzca su precio entre 360 y 600 €. (23)

Ventajas

- Es un sistema que extrae fácilmente los parásitos.
- El equipo no es muy costoso.
- Destruye las larvas una vez extraídas.
- No requiere personal especializado.

Inconvenientes

- Se deben hacer campañas publicitarias dirigidas a los pescadores para informarles de la existencia de este método para que lo apliquen.
- Es un sistema muy reciente que aún no está comercializado.

4.2.4. Electrocuación

En el año 2005 se ha publicado el documento de solicitud de una patente (ES2213486) en la que se desarrolla un nuevo método para inactivar las larvas de *Anisakis simplex* presentes en el pescado recién capturado de forma rápida y sencilla.

El procedimiento de electrocuación es apropiado para utilizarse en los barcos sobre los peces recién capturados. Consiste en someter a los peces a una corriente eléctrica para destruir la larva de *Anisakis simplex* y otros parásitos. Cuando se trata de ejemplares grandes se hace de forma individualizada, en cambio si los peces son pequeños se puede hacer de forma masiva por inmersión de los mismos en recipientes con una disolución electrolítica (como agua con sal). El ánodo y el cátodo se ajustan para que proporcionen una intensidad variable en función del tamaño y características del pescado.

Ventajas

- Utiliza una tecnología sencilla.
- Es un método rápido.
- No requiere personal especializado.

Inconvenientes

- Es muy reciente y aún no está comercializado.
- Se deben realizar estudios para comprobar cómo afecta a las propiedades organolépticas del pescado.
- Se requieren estudios para tabular los tiempos e intensidades de electrocuación de las larvas presentes en diferentes especies de pescado.

4.2.5. Otros tratamientos de inactivación

Además de los métodos desarrollados en apartados anteriores también existen otras formas de inactivar la larva de *Anisakis* mediante el uso de ciertos compuestos activos que la destruyen.

- Las **salmueras** utilizadas normalmente en los hogares para preparar el típico plato español de "boquerones en vinagre" no destruyen las larvas de *Anisakis* o requieren muchos días (hasta más de un mes) para hacerlo. Este hecho hace que varios grupos de investigación trabajen en diferentes tipos de salmueras que sean rápidas y efectivas contra la larva. Uno de ellos, de la Universidad de Alcalá de Henares, ha desarrollado una patente en la que se detalla una nueva combinación que invierte mucho menos tiempo para destruir las larvas de *Anisakis*.

Esta patente, ES2233194, consiste en la preparación de una salmuera con una concentración aproximada del 12% de cloruro sódico (sal común) y de un mínimo del 10% de ácido acético (E-260) en lugar de vinagres comerciales. Los boquerones, limpios y fileteados se han de sumergir en ella durante 5 días a 4° C (el tiempo se puede reducir hasta dos días si la concentración de sal es del 40%). Finalmente, los boquerones se pueden alinear o someter a varios lavados antes de su consumo. Con esta salmuera, se pueden preparar de forma tradicional los "boquerones en vinagre", sin necesidad de una congelación previa, con la certeza de destruir al 100% las larvas de *Anisakis* y conservando sus propiedades organolépticas.

- Determinados productos vegetales como el **jengibre** contienen principios activos, como el shogaol y gingerol, que destruyen la larva de *Anisakis*. En países como China es tradicional añadir esta raíz al pescado crudo. Este hecho, unido al hábito de consumir el pescado crudo al final de las comidas (con el estómago lleno las larvas tienen más dificultad para adherirse a la pared) son dos razones posibles por las que diagnostican pocos casos de anisakiasis en este país. (5)



Figura 8. Raíz de jengibre

- Distintos trabajos realizados con **aceites esenciales** y sus principales componentes han puesto de manifiesto el creciente interés de los mismos dentro del ámbito de la parasitología. Estudios recientes muestran la actividad larvicida *in vitro* del aceite esencial de la planta aromática Perilla (*Perilla frutescens*) frente a la larva L3 de *Anisakis simplex*. El principal componente de este aceite es el perillaldehído. Otros compuestos activos frente a la larva son el geraniol, el citral y el citronellol, que están presentes en diferentes aceites esenciales. (24)

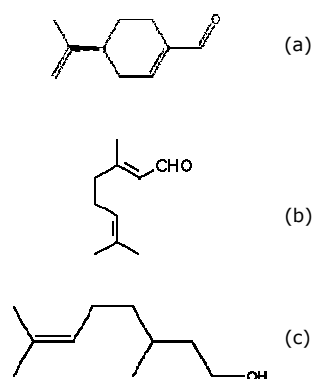


Figura 9. (a) Perillaldehído, (b) citral (c) citronellol.

El uso de estos compuestos y de las plantas aromáticas que los contienen frente a la anisakiasis es una de las posibilidades para reducir el parasitismo en humanos. (24)

- En la patente rusa RU2264112 se recoge un método que inactiva las larvas de *Anisakis* que consiste en combinar varios procesos del tipo de sazonado, congelación y descongelación.
- Los parásitos presentes en las vísceras extraídas de los peces en los buques pesqueros se pueden inactivar mediante un tratamiento con microondas. En la Fundación CETMAR (www.cetmar.org) se ha detectado un proyecto de investigación para el desarrollo de un dispositivo que se basa en la aplicación de esta tecnología sobre las vísceras para inactivar las larvas del parásito y evitar su propagación.

En la tabla 4 se recogen los tiempos que invierten determinadas sustancias en destruir la larva de *Anisakis simplex*. (2)

Sustancia	Tiempo de supervivencia
Formol 10%	6 días
Cloruro sódico* (0,9%)	24 días
Cloruro sódico* (15%)	3 días
Cloruro sódico* (saturada)	1 día
Ácido clorhídrico 1%	112 días
Jugo gástrico a 37° C	10 días
Ácido acético	32 días
Vinagre	51 días
Salsa de soja	1 día
Pasta de <i>wasabi</i>	18 horas
Jengibre	2 horas (*) sal común

Tabla 4. Tiempos de supervivencia de las larvas de *Anisakis* en contacto con diferentes sustancias

Además de los métodos descritos en este informe es importante nombrar la **irradiación** como método de inactivación. Aunque es efectivo para destruir los parásitos la legislación europea no permite su uso para el tratamiento del pescado. Consiste en someter a las piezas de pescado a una radiación que destruye la cutícula de las larvas (25). No obstante, en algunos estudios se manifiesta que este método disminuye la calidad sensorial del producto porque modifica algunas propiedades organolépticas como la textura. (2)

5. Legislación

Como consecuencia de los casos crecientes de anisakiasis la Unión Europea publicó en 1991 la *Directiva 91/493/CEE* en la que se especificaban ciertas medidas para reducir esta enfermedad. Dicha directiva se derogó en 2004 por el *Reglamento (CE) núm. 853/2004* en el que establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal.

En el *Reglamento 853/2004* se detallan las normas sanitarias aplicables a los productos de la pesca en cuanto a la infestación por parásitos. Algunas de las especificaciones que recogen estas normas son las siguientes:

- Los operadores de empresa alimentaria deben garantizar que los productos de la pesca se hayan sometido a un examen visual con el fin de detectar los parásitos visibles antes de ser puestos en el mercado.
- No pondrán comercializarse en el mercado para uso humano los productos de la pesca que estén claramente infestados con parásitos.
- Los operadores de empresa alimentaria deben garantizar que:
 - o los productos destinados a consumir crudos y prácticamente crudos se sometan a un tratamiento de congelación ($\leq -20^{\circ}$ C en el interior del pescado, durante al menos veinticuatro horas).
 - o Los productos en escabeche (cuando este proceso no baste para matar las larvas) y las especies arenque, caballa, espadín y salmón salvaje del Atlántico o del Pacífico, cuando se traten mediante ahumado en frío (temperatura interior del pescado inferior a 60° C) también deben someterse al tratamiento anterior.

Además, en el momento de la puesta en el mercado de estos productos, salvo cuando se suministren al consumidor final, deben ir acompañados de un documento del fabricante en el que se especifique el tipo de proceso al que han sido sometidos.

Como excepción, los operadores de empresa alimentaria no tienen que realizar el tratamiento exigido cuando los datos epidemiológicos disponibles indiquen que la zona de pesca de origen no presenta ningún peligro sanitario en lo que se refiere a la presencia de parásitos, y las autoridades competentes así lo autoricen.

El examen o control visual al que se refiere el *Reglamento* anterior viene detallado en la *Decisión 1993/140/CEE*, que establece las modalidades del control visual para detectar parásitos en los productos de la pesca.

6. Patologías producidas por *Anisakis simplex* (2) (16) (26) (27) (28) (29)

Un parasitismo "eficaz" debería permitir la supervivencia no sólo del parásito sino también del hospedador, por lo que una de las características más típicas de las enfermedades parasitarias es la cronicidad.

Durante la infestación con *Anisakis simplex* se generan ciertos cambios patológicos en el tracto gastrointestinal humano, que son el resultado combinado de la acción traumática directa causada por la larva durante la invasión tisular y de la interacción compleja entre el sistema inmunitario humano y el conjunto de sustancias liberadas o contenidas en el parásito. (29)

Ya desde los años 70 se propuso que las sustancias liberadas a través del canal excretor principal de *Anisakis simplex* posiblemente tenían propiedades proteolíticas. Se ha comprobado que las larvas del parásito son capaces de degradar algunos componentes de la matriz extracelular de la pared gastrointestinal (*in vitro*). Este hecho, junto con el diente oral de la larva, son los principales responsables de la penetración tisular del parásito en el tracto digestivo. (29)

Los productos metabólicos liberados por la larva también tienen gran importancia desde el punto de vista inmunológico. Se ha descrito que alrededor de la región oral del nematodo se forman unas protuberancias compuestas principalmente por productos excretados y secretados por la larva. (29)

La infestación humana por *Anisakis simplex* se caracteriza por dos aspectos:

- la mayoría de los casos descritos se producen por una única larva.
- el asentamiento larvario más frecuente se produce en el tracto digestivo (aunque también pueden atravesar la pared gastrointestinal y migrar hasta asentarse en otros emplazamientos).

Por este motivo es inútil el diagnóstico de la enfermedad por técnicas coprológicas (análisis de heces) y es aconsejable hacer un examen endoscópico cuando el parásito se asienta en zonas accesibles. (29)

6.1. Descripción de las diferentes patologías

El primer caso descrito de parasitismo de *Anisakis simplex* fue en 1876 y en 1960 se identificó el agente agresor como L3 de *Anisakis simplex*. Esta enfermedad se puede producir al ingerir pescado parasitado poco cocinado o crudo como es el caso de los ahumados en frío, de las semiconservas, de los pescados en vinagre, del ceviche y de otras especialidades de pescado crudo.

El hombre es un hospedador accidental en el que la larva no puede completar su ciclo vital y alcanzar la madurez sexual. La presencia del parásito en el hombre causa varios cuadros clínicos que pueden afectar a diversos órganos (2) (27):

1. Forma luminal: el parásito se adhiere a la mucosa digestiva y no se presentan síntomas. Se diagnostica al identificar las larvas en el vómito o las heces. Las larvas mueren en pocas semanas y se expulsan a través de las heces.
2. Anisakiasis gástrica o intestinal: las larvas llegan hasta la submucosa mediante la acción de una peptidasa y causan dolor epigástrico. La larva puede anclarse en el estómago (forma gástrica) o en el intestino (forma intestinal). Se ha de extraer el

parásito para que no evolucione a una forma subaguda o crónica, en la que las larvas pueden atravesar la pared gástrica o intestinal, pudiendo originar inflamaciones junto con fiebre, diarrea y dolor abdominal. Pueden simular cuadros apendiculares, obstrucción y pseudo-obstrucción intestinal. En alguna ocasión las larvas han invadido otros órganos como pulmón, hígado, bazo y páncreas.

- Forma extraintestinal: con hallazgos de larvas en hígado y bazo.
 - Forma extradigestiva: con hallazgos en pulmón, articulaciones, etc.
3. Alergia: en forma de urticaria, angioedema o anafilaxia (reacción alérgica). Se ha podido demostrar que dichas reacciones son mediadas por anticuerpos de clase IgE (inmunoglobulina E) específica inducidos por determinados antígenos del parásito tras el consumo de pescado bien cocinado. Dentro de las reacciones alérgicas mediadas por *Anisakis simplex* podemos diferenciar dos tipos:
- Una reacción anafiláctica inducida por antígenos termoestables que se desarrolla pese a que el pescado se consuma cocinado o congelado (sin larvas viables en su interior). Este tipo no es muy frecuente (30).
 - Un parasitismo digestivo agudo acompañado de síntomas alérgicos denominado anisakiasis gastroalérgica desencadenada por la ingesta de pescado crudo o insuficientemente cocinado. Se diagnostica en pacientes que tras la ingesta de pescado bien cocinado dan positivo al alérgeno en las pruebas cutáneas y en las de IgE específica y negativas en las del pescado implicado en la reacción (30).

Generalmente, todos estos cuadros clínicos se agrupan en tres patologías: anisakiasis, alergia a *Anisakis simplex* y anisakiasis gastroalérgica.

Alergia a las proteínas de *Anisakis simplex* (27)

Una exposición de las células inmunológicas del tubo digestivo a las proteínas de *Anisakis* puede causar que estas últimas se identifiquen como agentes extraños (antígenos) en un momento determinado. Esta exposición suele presentarse cuando la larva de *Anisakis* penetra la mucosa intestinal y tienen contacto con los pequeños vasos sanguíneos que forman parte de la pared. Una vez identificados, se puede iniciar el mecanismo de síntesis y producción de anticuerpos IgE específicos contra estos antígenos y desencadenar toda la cascada de la reacción alérgica cada vez que se tenga contacto con las proteínas de las larvas de *Anisakis*.

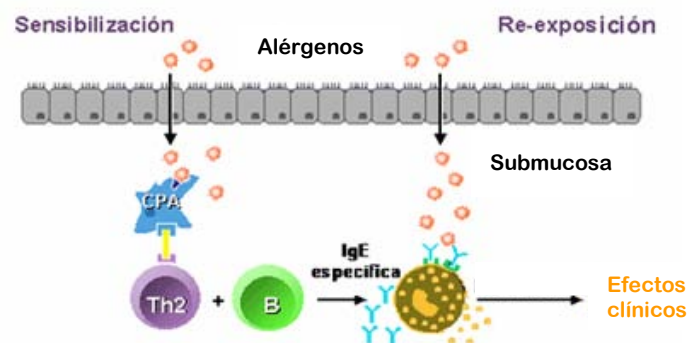


Figura 10. Desencadenamiento de una reacción alérgica (31)

Generalmente no se desencadena una reacción alérgica cuando se tiene contacto con las proteínas del *Anisakis* por primera vez. No obstante, se puede padecer una reacción alérgica

si se tiene contacto por primera vez con las proteínas de otros parásitos que tienen características similares con el *Anisakis*. Estos fenómenos se conocen con el nombre de **reactividad cruzada**.

Se han realizado varias pruebas en las que se sometía a pacientes alérgicos a provocaciones orales con la larva muerta. Dichas pruebas, que resultaron negativas en su mayoría, han sugerido que el parásito vivo es el responsable de las reacciones alérgicas (al introducirse dentro de la mucosa). Por lo tanto, cuando el pescado donde se alojan las larvas se somete a congelación o un cocinado suficiente, las larvas discurren por el intestino sin producir síntomas ya que los antígenos no llegan en cantidad suficiente a la sangre para desencadenar una reacción alérgica. Por ello, parece ser que la alergia a las proteínas termoestables de la larva de *Anisakis* es menos frecuente de lo que se especula, debiéndose valorar en los casos positivos posibles alteraciones en la mucosa intestinal del paciente. (27) (30) (32)

Antígenos y alérgenos de *Anisakis* (7) (28) (32)

Las larvas de *Anisakis simplex* en estadio L3 y L4 están provistas de varios componentes antigénicos. Estos antígenos son moléculas que pueden inducir una respuesta inmune del hospedador parasitado (tienen la capacidad de interactuar con los productos del sistema inmune). Los antígenos que originan un proceso de hipersensibilidad o alergia, estimulando la producción de anticuerpos IgE son los que se denominan alérgenos.

Desde un punto de vista estructural y funcional se pueden encontrar tres grupos de antígenos presentes en el parásito:

- Antígenos somáticos*. Son las moléculas antigénicas más abundantes y algunas presentan reactividad cruzada con antígenos de otros ascáridos. Solamente son funcionales una vez muerta y degradada histológicamente la larva.
- Antígenos de superficie*. Son moléculas que se expresan en la cutícula del parásito. Éstas también se pueden encontrar en otros nematodos. Se sintetiza cuando se da la transición del tercer estadio larvario al cuarto.
- Antígenos E/S* (de excreción-secreción). Corresponden a las moléculas que el parásito puede sintetizar tanto en la glándula esofágica dorsal como en las células secretoras del tracto digestivo. Estas moléculas le ayudan a penetrar en la mucosa gástrica, por lo que las libera al medio cuando durante la infestación. Los anticuerpos frente a estos antígenos son los primeros en aparecer.

Se ha observado que la respuesta inmune más abundante es la que se inicia debido a los antígenos somáticos y que éstos son mucho más específicos que los de excreción/secreción y que los de superficie.

De entre estos grupos de antígenos los principales alérgenos (antígenos con capacidad alérgica) identificados se enumeran en la tabla 5.

Nombre	Descripción	Masa molecular
AniS1	Proteína presente en la glándula excretora del nematodo	24 kDa
AniS2	Proteína presente en el cuerpo del nematodo denominada paramiosina	97 kDa
AniS3	Proteína muscular denominada tropomiosina	41 kDa
AniS4	Proteína que pertenece al cuerpo de la larva. Responsable de casos de alergia en pacientes que han ingerido pescado bien cocinado o enlatado	9 kDa

Tabla 5. Alérgenos principales de *Anisakis simplex* (30) (31)

6.2. Diagnóstico (26)

La anisakiasis, como ya se ha comentado en este informe, consiste en el parasitismo del hombre mediado por el tercer estadio de desarrollo de la larva de *Anisakis simplex*. Para un diagnóstico correcto es imprescindible un mejor conocimiento de las diferentes formas clínicas de la enfermedad. Las pautas a seguir en el diagnóstico podrían ser las siguientes:

- 1- Anamnesis: Acción previa para recoger los datos personales, hereditarios y datos anteriores a la dolencia.
- 2- Estudio complementario inicial:
 - a- Radiografía simple
 - b- Ecografía
 - c- Técnicas endoscópicas
- 3- Estudio anatomopatológico
 - a- Pruebas cutáneas en *prick*
 - b- Determinación de los niveles de IgE sérica total e IgE específica frente a *Anisakis simplex*
 - c- Realización de Western-Blot frente a *IgE* (también conocido como *immunoblot*)
 - d- Pruebas de provocación
- 4- Estudio inmunoalérgico

Tabla 6. Esquema orientativo para el diagnóstico de la anisakiasis (26)

6.2.1 Diagnóstico del parasitismo (2)

A diferencia de otros parasitismos, la anisakiasis no se puede diagnosticar mediante pruebas de análisis de heces, por lo que el diagnóstico se realiza por imagen. La técnica más utilizada actualmente es la **endoscopia** (cuando la larva no se observa por endoscopia normal se suele administrar un colorante para poder apreciarla).

La **radiografía** es otra técnica de diagnóstico que se emplea para detectar la larva. Se utiliza en menor medida que la endoscopia debido a su menor eficacia. Sin embargo, es necesaria cuando no se puede realizar una endoscopia por causa de alguna lesión en el paciente.

La **ecografía** también se usa en ocasiones, pero como puede confundirse con una obstrucción intestinal, apendicitis u otras dolencias intestinales es necesaria una posterior endoscopia para confirmar.

6.2.2 Diagnóstico de alergias

El diagnóstico de alergia a *Anisakis simplex* se inicia generalmente comprobando la existencia de una historia clínica compatible como urticaria/ angioedema o anafilaxia tras ingestión de pescado.

Son corrientes las pruebas cutáneas en *prick*, que se realizan con el extracto comercial de *Anisakis simplex* en una concentración de 1 mg/ml, practicándose una lectura rápida a los 15 minutos y otra tardía a las 24 horas. Esta prueba tiene baja especificidad, ya que no distingue entre verdaderos y falsos positivos (reactividad cruzada). (3) (6) (26)

También es habitual realizar determinaciones de los niveles séricos de IgE específica de *Anisakis*. Se puede realizar un ensayo enzimoinmunológico (ELISA) mediante la determinación de la IgE en el suero del paciente. Los métodos de ELISA y *Western-Blot* son los más usados dado que son capaces de distinguir casos de reactividad cruzada con

antígenos de otros nematodos y parásitos (*Ascaris lumbricoides*, *Hystothylaceum aduncum*, *Capillaria gracilis* y *Cucullanus hians*). Aún así, está en desarrollo una técnica más específica en la que se utilizan anticuerpos monoclonales. (3) (6) (26)

El problema de la **reactividad cruzada**, que genera multitud de falsos positivos en las pruebas cutáneas, se refleja en numerosos estudios de los que se puede extraer la información contemplada a continuación (28):

- La tropomiosina de la larva de *Anisakis simplex* está relacionada con otros artrópodos, por lo que puede ser responsable de falsos positivos.
- Los antígenos somáticos de la larva presentan reactividad cruzada con otros nematodos debido a que contienen enzimas unidos a grupos biotina que coinciden.
- Por otro lado, los extractos obtenidos a partir del cuerpo entero de la larva, contienen carbohidratos que pueden ser responsables de la reactividad cruzada. En este caso, es necesario tratar el extracto con periodato, que es una sustancia que destruye las estructuras glucídicas. No obstante, también se puede eliminar el problema de la reactividad cruzada utilizando anticuerpos monoclonales.
- El antígeno secretor-excretor sólo se detecta por la IgE específica frente a este alérgeno en pacientes con anisakiasis gástrica o gastroalérgica. No presenta reactividad cruzada, por lo que es el mejor antígeno para el diagnóstico.

Además, es importante realizar pruebas cutáneas con pescados para descartar la posible existencia de una alergia alimentaria a estos alimentos. También debería hacerse una prueba de provocación oral con larvas muertas del parásito para asegurarse de que la alergia es causada por las proteínas termoestables.

Algunos expertos opinan que el parasitismo repetido, que a veces puede ser asintomático, podría desencadenar la sensibilización al antígeno proteico, provocando una respuesta inmune mediada por IgE y causando síntomas de alergia. (16)

<u>Anisakiasis gastroalérgica</u>	<u>Alergia a <i>Anisakis</i></u>
Intensa sintomatología digestiva	
Angioedema o anafilaxia	Angioedema o anafilaxia
Ingestión previa de pescado poco cocinado <24-48 h)	Ingestión previa de pescado poco cocinado (<6 h)
Detección de anticuerpos específicos IgE frente a <i>Anisakis simplex</i>	Detección de anticuerpos específicos IgE frente a <i>Anisakis simplex</i>

Tabla 7. Diferencias entre el diagnóstico probable de anisakiasis gastroalérgica y alergia (16)

La empresa *Sweden Diagnostics* SL y la Universidad de Cádiz están colaborando en un proyecto de investigación del Programa de Estímulo a la Transferencia de Investigación (PETRI) titulado "Identificación de alérgenos de *Anisakis simplex* mediante técnica de *phage display*" cuyo objetivo es el desarrollo de *Kits* de diagnóstico automáticos para detectar la alergia a *Anisakis*. De manera general, con este proyecto se pretende optimizar las técnicas existentes para identificar y cuantificar anticuerpos anti-alérgenos en sueros de pacientes.

Por otro lado, en el Centro Tecnológico Azti-Tecnalia, especializado en la investigación marina y de alimentos, se trabaja en el desarrollo de un método sensible y fiable para la

detección de *Anisakis simplex* en varias matrices alimentarias mediante la aplicación de la tecnología de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) a tiempo real. (33)

En este mismo centro Itziar López de Gamboa realiza una tesis sobre los alérgenos de *Anisakis simplex*.

6.3. Tratamiento (3) (16)

El tratamiento de las diferentes patologías es diferente según sea un parasitismo o una alergia.

- En la forma digestiva se ha demostrado que el único tratamiento efectivo es eliminar el parásito mediante una endoscopia.
- En el caso de las alergias el tratamiento se basa en el uso de antihistamínicos, corticoides y adrenalina si se produce anafilaxia.
- En la anisakiasis gastroalérgica se debe tratar la reacción alérgica y a su vez, si es posible, extraer las larvas mediante una endoscopia digestiva.

En el siguiente cuadro se expone un resumen de las diferentes sintomatologías, diagnóstico y tratamiento adecuado para cada una de ellas, así como medidas preventivas para evitar estas patologías.

Anisakiasis	Forma digestiva		Forma alérgica
	Parietal	Luminal	
Clinica	Epigastralgia Naúseas, vómitos Úlcera gástrica	Abdomen agudo Diarrea / estreñimiento Rectorragia	Urticaria Asma Anafilaxia = cuadro digestivo
Diagnóstico	Observación directa de parásitos - Gastroscopia - Vómitos, heces IqE elevada Presentación familiar		IqE específica Determinación Ag * - Western Blot - Elisa Ac. monoclonales
Tratamiento	Eliminación de parásito (endoscopia) Tratamiento sintomático - dieta absoluta - observación - cirugía si precisa		Tto. sintomático - Antihistamínicos - Corticoides - Broncodilatadores - Adrenalina
Prevención	Primaria - Evitar pescados crudos o poco cocinados - Evisceración precoz pescado fresco - Congelación -20° C al menos 48 horas - Coccción a 60° C al menos 10 minutos Tras algún episodio de patología anisakiasis - Retirada pescado marino y salmón (permanente en casos de anafilaxia) - Retirointroducción tras tres meses según normas previas (iniciar con pescado congelado)		

Cuadro resumen sobre los síntomas, diagnóstico, tratamiento y medidas preventivas de la Anisakiasis. (3)

* Anticuerpo

La dieta en ausencia de pescado como tratamiento frente a las patologías

Después de un episodio de anisakiasis algunos autores recomiendan evitar el consumo de todo tipo de pescado y marisco, aunque un grupo mucho mayor está en desacuerdo. Estos últimos se basan en que después de realizarse pruebas de provocación oral con el parásito muerto en algunos pacientes sensibilizados se han obtenido resultados negativos (34). Eso sí, para evitar la reacción alérgica en algunos estudios se aconseja que los pacientes sensibilizados mantengan el pescado a -20° C durante 72 horas para asegurar la destrucción del parásito. (3) (26)

En la tabla 8 se muestran los resultados de un estudio en el que se administraron tres dietas diferentes a pacientes sensibilizados a *Anisakis simplex*. Parece que tanto el nivel de IgE como la reacción alérgica se redujeron en los casos en los que la dieta contenía pescado congelado o ausencia del mismo. (3)

Pacientes alérgicos a <i>Anisakis simplex</i>	Nivel de IgE	Casos de alergia
Dieta en ausencia de pescado	45%	-
Dieta con pescado congelado	57%	5%
Dieta con pescado fresco	=	16%

Tabla 8. Influencia de la dieta en la alergia mediada por *Anisakis simplex*

De todas formas, los expertos coinciden en que el mejor tratamiento es a aplicación de medidas preventivas (como la congelación) cuando el pescado se consume insuficientemente cocinado.

7. Resumen y conclusiones

La anisakiasis y, especialmente, la alergia a *Anisakis* preocupan cada día a un mayor número de consumidores. Una parte de los mismos considera que la información relativa a estas enfermedades y a las medidas preventivas recomendadas resulta confusa o insuficiente, lo que ha generado un ambiente de desconfianza hacia el consumo de pescado.

En el presente informe de vigilancia tecnológica se han identificado varios **métodos de detección** de *Anisakis simplex* en pescado. Entre ellos, el más utilizado en la industria pesquera es la transiluminación. Sin embargo, estudios recientes han evidenciado que la eficacia de esta técnica es bastante baja.

Una alternativa más interesante sería la detección de las larvas de *Anisakis* mediante la técnica de diferencia de conductividad. Esta alternativa presenta una elevada eficacia comparada con la descrita en el párrafo anterior. Además, puede automatizarse para la detección de los anisákidos en la propia línea de producción.

Esta tecnología se encuentra disponible en la Oficina de Transferencia Tecnológica de la Universidad de Vanderbilt (EE.UU.) De acuerdo con la información que han proporcionado al CIBT desde esta entidad, la tecnología se encuentra patentada pero aún no se ha localizado una empresa interesada en licenciar dicha patente para su desarrollo a escala comercial.

Con respecto al resto de métodos descritos (examen visual, digestión, iluminación con luz ultravioleta) todos ellos presentan unas limitaciones comunes: su implementación a escala industrial resulta muy compleja.

Los **métodos de inactivación** de *Anisakis simplex* más comunes son los tratamientos térmicos: la congelación y el empleo de altas temperaturas. Estos métodos permiten tanto al productor como al consumidor eliminar las larvas viables de este parásito del pescado. De acuerdo con los últimos estudios, las condiciones recomendadas para garantizar el tratamiento efectivo de estos alimentos son:

- En los procesos de congelación se aconseja que la temperatura interna de la pieza alcance los -20° C como mínimo durante 48-72 h.
- En los procesos basados en altas temperaturas los valores se fijan en 60° C para la zona interna del producto durante 10-12 minutos.

Aparte de estas técnicas, se han desarrollado otros métodos como la alta presión hidrostática, la succión por vacío y la electrocución. La primera de ellas altera mínimamente las propiedades organolépticas del alimento. Sin embargo, los equipos de alta presión resultan bastante costosos por lo que su empleo podría quedar limitado al tratamiento de productos de alto valor añadido.

La succión por vacío se presenta como una alternativa muy prometedora ya que permite la extracción de los parásitos con gran facilidad. La patente que corresponde a este sistema solicitada por el FROM ha sido concedida este mismo año. De momento, no se han desarrollado equipos comerciales de succión aunque existen algunos prototipos.

Otra posibilidad interesante es la electrocución. Se trata de un método sencillo y rápido cuya patente ya se ha solicitado y está en espera de concesión. Debido a su reciente desarrollo aún no se dispone de equipos de electrocución comerciales ni se ha determinado con exactitud si este proceso podría alterar las características sensoriales del pescado.

Con respecto a otros tratamientos identificados en este informe, como las salmueras y los compuestos vegetales con actividad antiparasitaria, éstos modifican el sabor o el olor del producto lo que reduce su aceptación por parte del consumidor.

En cuanto a las **patologías** generadas por *Anisakis simplex*, anisakiasis y alergia, se ha producido un incremento en el número de investigaciones en estas áreas. Concretamente, se están realizando esfuerzos especiales para determinar los compuestos responsables de la alergia provocada por este parásito y para diferenciar este problema de las reacciones causadas por otras sustancias.

Tras episodios de anisakiasis o alergia algunos especialistas recomiendan eliminar el pescado de la dieta aunque son más numerosos los que opinan que es innecesario adoptar esta medida. Si en las pruebas médicas correspondientes no se presentan síntomas de alergia a la larva muerta debe consumirse pescado regularmente siguiendo las prácticas de prevención recomendadas (congelación o cocinado).

En este informe se ha incluido además una relación de varios grupos de investigación nacionales y extranjeros que trabajan en la detección e inactivación de anisákidos en el pescado y en las patologías que producen. Entre ellos destaca el grupo de Margarita Tejada del Departamento de Ciencia y Tecnología de la Carne y Productos Cárnicos y del Pescado y Productos de la Pesca del Instituto del Frío. Este grupo tiene actualmente varios proyectos en curso sobre tecnologías para evaluar la presencia de anisákidos en el pescado y la eficacia de distintos tratamientos tecnológicos y culinarios para su eliminación.

En resumen, en el presente informe de vigilancia tecnológica se han identificado varias tecnologías de detección (diferencia de conductividad) e inactivación (succión por vacío y electrocución) de *Anisakis simplex* en pescado. Aunque por el momento no hay equipos comerciales disponibles los resultados experimentales las señalan como alternativas muy prometedoras comparadas con las utilizadas hasta el momento.

Por tanto, sería recomendable que ADEPESCA continuara con el proceso de vigilancia tecnológica no sólo en lo referente a estas tres tecnologías sino también en otras áreas de interés que pudieran surgir en un futuro. La vigilancia tecnológica permitiría a ADEPESCA identificar los desarrollos científicos y las innovaciones tecnológicas que pudieran tener algún impacto en el sector pesquero, en general, y en el comercio minorista de pescado, en particular.

8. Referencias

- (1) Osanz Mur, A.C. (Bellaterra, Julio 2001). Tesis Doctoral: Presencia de larvas de anisákidos (Nematoda: Ascaridoidea) en pescado de consumo capturado en la zona pesquera de Tarragona.
- (2) Anisakiosis y alergia: un estudio seroepidemiológico de la Comunidad Autónoma Gallega. *Documentos técnicos de Saúde Pública*, Serie B nº24.
- (3) Pérez Cachafeiro, S; Martín-Pozuelo Cantos, A.M.; Cabrera Vélez, R (2004). Anisakiasis ¿Un problema de difícil digestión? *Médicos de familia - Revista de la sociedad madrileña de medicina de familia y comunitaria*, 2, Vol. 6.
- (4) Documento de solicitud de patente vía PCT: WO9314400.
- (5) Rello Yubero, F.J; Adroher Auroux, F.J; Valero López, A. (2004). Anisákidos parásitos de peces comerciales. Riesgos asociados a la salud pública. *Anales de la real academia de ciencias veterinarias de Andalucía oriental*, 17(1).
- (6) María Teresa Audicana, M.T; Ansotegui, I.J; Fernández de Corresi, L; Kennedy, M.W. (2002). *Anisakis simplex*: dangerous-dead and alive? *TRENDS in Parasitology*, 18 (1).
- (7) Opinión del Comité Científico de la AESA, sobre una cuestión presentada por la Presidencia, en relación con los factores favorecedores de la aparición de alergia a *Anisakis*, así como de las medidas de prevención aplicable. Referencia: AESA-2005-008.
- (8) Ferrer, I. 2001. Anisakiosis y otras zoonosis parasitarias transmitidas por consumo de pescado. *Revista AquaTIC*, 14, p. 1-21.
- (9) Sánchez-Monsálvez, I. et al. (2006). Freezing infective-stage larvae from *Anisakis simplex* and their produce at -20°C for 24 h does not prevent the occurrence of autonomic imbalance in rat ileum. *Parasitol. Res.* 99, p. 262–268.
- (10) Documento de la FAO: Round Worms in Fish [en línea]. Disponible en web: <http://www.fao.org/wairdocs/tan/x5951e/x5951e01.htm>. [consulta: 22.08.2006].
- (11) Brent R. Dixon (2006). Government of Canada, Health products and food branch – Ottawa. Isolation and identification of anisakid roundworm larvae in fish. Disponible en web: www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/volume5/opflp_02_e.html. [consulta: 16.08.2006].
- (12) Levsen A, Lunestad BT, Berland B. (2005). Low detection efficiency of candling as a commonly recommended inspection method for nematode larvae in the flesh of pelagic fish. *J Food Prot.* 68 (4), p.828-32.
- (13) Informe de la 26ª reunión del Comité del Codex sobre pescado y productos pesqueros (Anexo I-Determinación de la viabilidad de los nematodos) [en línea]. Disponible en web: www.fao.org/docrep/meeting/008/j1682s/j1682s00.htm. [consulta: 22.08.2006].

- (14) G. Choudhury, W.G. Jenks, J.P. Wikswo, Jr., and C.G. Bublitz (2002). Effects of Parasite Attributes and Injected Current Parameters on Electromagnetic Detection of Parasites in Fish Muscle. *J. Food Science: Food Engineering and Physical Properties*, 67, p.3381-3387.
- (15) G. Choudhury, W.G. Jenks, J.P. Wikswo, Jr., and C.G. Bublitz. Effects of parasite attributes and injected current parameters on electromagnetic detection of parasites in fish muscle. Annual Meeting - New Orleans (Session 88C) [en línea]. Disponible en web: http://ift.confex.com/ift/2001/techprogram/paper_6743.htm. [consulta: 20.08.2006].
- (16) López-Serrano, M. C. (moderador) (2001). Sesión de controversia: Diagnóstico de alergia a *Anisakis simplex*. *Alergología e Inmunología Clínica*, 16 (Extraordinario Núm. 2), p.39-56.
- (17) "Novelties Of Food Freezing Research In Europe And Beyond". Julio 2003
- (18) Adams AM, Miller KS, Wekell MM, Dong FM. (1999). Survival of *Anisakis simplex* in microwave-processed arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*). *J Food Prot*; 62 (4), p.403-9.
- (19) Evaluación de los tratamientos culinarios de pescado con el fin de establecer medidas preventivas para evitar el riesgo de infestación por *Anisakis simplex* [en línea]. Disponible en web: http://www.elika.net/datos/documentos/proyectos_derivados/Anisakis%20Resultados.pdf. [consulta: 11.09.2006].
- (20) A. D. Molina- García, P. D. Sanz. (2002). *Anisakis simplex* Larva Killed by High-Hydrostatic-Pressure Processing. *Journal of Food Protection*, 65, p. 383-388.
- (21) F. M. Dong, A. R. Cook, R. P. Herwig. High pressure processing to inactivate *Anisakis simplex* in raw fish destined for the sashimi market. 2004 IFT Annual Meeting, July 12-16 - Las Vegas, NV.
- (22) Faye M. Dong, Allison R. Cook, And Russell P. Herwig. (2003). High Hydrostatic Pressure Treatment of Finfish To Inactivate *Anisakis simplex*. *J Food Prot.*, 66(10), p.1924-6.
- (23) Noticia: Jaque tecnológico al anisakis [en línea]. Disponible en web: www.elcomerciodigital.com [consulta 11.09.2006].
- (24) Hierro, I; Valero, A; Navarro, M.C. (2006). In vivo larvicidal activity of monoterpenic derivatives from aromatic plants against L3 larvae of *Anisakis simplex* s.l. *Phytomedicine*, 13, p. 527-531.
- (25) Processing parameters needed to control pathogens in cold smoked fish (Potential hazards in cold-smoked fish: Parasites) [en línea]. Disponible en web: <http://www.cfsan.fda.gov/~comm/ift2para.html>. [consulta: 11.09.2006].
- (26) Domínguez Ortega, J; Martínez-Cócera, C. (2000). Guía de actuación en patología producida por *Anisakis*. *Alergología e Inmunología Clínica*, 15, p.267-272.
- (27) Gómez, B; Lasa, E; Arroabarren, E; Garrido, S; Anda, M. (2003). Alergia a *Anisakis simplex*. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 26, p.25-30.

- (28) A.Valls, C.Y. Pascual, M. Martín Esteban (2005). *Anisakis* allergy: an update Allergie à *Anisakis*. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 45 p. 108-113.
- (29) C. Blanco Guerra (moderador) (2000). Anafilaxia: nuevos aspectos: *Anisakis*: su papel en la anafilaxia. *Alergología e Inmunología Clínica*; 15 (Extraordinario nº 2), p.65-96.
- (30) M^a C. López Serrano, A. Alonso-Gómez, Á. Moreno-Ancillo, Á. Daschner, J. Suárez de Parga (2000). Anisakiasis gastro-alérgica: Hipersensibilidad inmediata debida a parasitismo por *Anisakis simplex*. *Alergología e Inmunología Clínica*, 15, 230-236.
- (31) Detección de *Anisakis simplex* y obtención de alérgenos recombinantes [en línea]. Disponible en web:
<http://www.alimentatec.com/muestrapaginas.asp?nodo1=43&nodo2=0&idcontenido=548&content=17>. [consulta: 22.08.2006].
- (32) *Anisakis simplex* en pescado [en línea]. Disponible en web:
<http://www.elika.net/datos/documentos/riesgos/Anisakis%20simplex%202005.pdf>
 [consulta: 11.09.2006].
- (33) Noticias AZTI-Tecnalia: AZTI-Tecnalia desarrolla métodos para la detección de alérgenos alimentarios [en línea]. Disponible en web:
www.alimentatec.com/muestrapaginas.asp?nodo1=43&nodo2=0&idcontenido=548&content=17. [consulta 14.09.2006].
- (34) E. Buendía (2000) ¿Cuándo se producen reacciones alérgicas por *Anisakis simplex*? *Alergología e Inmunología Clínica*, 15, p. 221-222.
- (35) Szostakowska, B; Myjak, P; Kur, J. (2002). Identification of anisakid nematodes from the Southern Baltic Sea using PCR-based methods. *Molecular and Cellular Probes*, 16, p. 111-118.
- (36) Cuellar MC, Fontanillas JC, Pérez Fuentes J y Pérez Tauler MP. (1991). Biología y epidemiología de la anisakidosis larvaria. Enfermedad del arenque. Ciencias Veterinarias. Consejo Gral de Col Vet de España 4, p. 57-63.
- (37) López Giménez R y Castell Monsalve J. (1994). Estudio de la Tasa de Parasitismo por Nematodos del Género *Anisakis* en el Pescado Fresco de venta más frecuente en Castilla La Mancha. *Alimentaria*, Septiembre, p. 37-42.
- (38) Pereira Bueno, J.M., Dehesa Santisteban, F., Cordero del Campillo, M. (1989). Anisákidos en Teleósteos de interés comercial. VI Congreso Nacional de Parasitología (Cáceres), Resúmenes de las Comunicaciones.
- (39) Ruíz-Valero, J., Valero, A., Adroher, F.J., Ortega, J.E., López-Grande, F. (1991). Presencia de ascáridos en peces comerciales de frecuente consumo humano en Granada. Parasitología en el Sur-Oeste de Europa, I Congreso Internacional de las Asociaciones Sudoccidental-Europeas de Parasitología-ICASEP I (Valencia), Compendio de Resúmenes de las Comunicaciones Presentadas.
- (40) Adroher, F.J., Valero, A., Ruíz-Valero, J., Iglesias, L. (1996). Larval anisakids (Nematoda: *Ascaridoidea*) in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) from the fish market in Granada (Spain). *Parasitol. Res.*, 82, p. 253-256.

- (41) Sanmartín, M.L., Quintero, P., Iglesias, R., Santamaría, M.T., Leiro, J., Ubeira, F.M. (1994). Nematodos Parásitos en Peces de las Costas Gallegas. Ediciones Díez de Santos, S.A., Madrid.
- (42) Viu, M., Sánchez-Acedo, C., del Cacho, E., Quílez, J., López-Bernad, F. (1996). Occurrence of anisakid larvae (Nematoda: Ascaridida) in fresh market fish from Zaragoza (Spain). *Res. Rev. Parasitol.*, 56, p. 25-28.
- (43) De la Torre Molina, R., Pérez-Aparicio, J., Hernández-Bienes, M., Jurado-Pérez, R., Martínez-Ruso, A., Morales-Franco, E. (2000). Anisakiasis en el pescado fresco vendido en el norte de Córdoba. *Rev. Esp. Salud Pública*, 74, p. 517-526.
- (44) Valero, A.; López-Cuello, M.; Benítez, R. y Adroher F.J. (2006). *Anisakis* spp. in European hake, *Merluccius merluccius* (L.) from the Atlantic off north-west Africa and the Mediterranean off southern Spain. *Journal Acta Parasitologica*, Vol. 51, 3, p. 209-212.

Anexo I – Grupos y proyectos de investigación

En el siguiente anexo se recogen los grupos de investigación entre cuyas líneas de trabajo se encuentran estudios sobre la larva de *Anisakis simplex* y sobre las patologías humanas que produce. También se especifican los proyectos de investigación detectados relacionados con el *Anisakis* en los que colaboran dichos grupos. En la primera parte se detallan los ubicados en centros de investigación españoles; en la segunda, los que se encuentran en hospitales nacionales; y en la tercera y última, los grupos de investigación extranjeros detectados a partir de los artículos referenciados más relevantes.

1. Grupos de centros de investigación españoles

Departamento de Ciencia y Tecnología de la Carne y Productos Cárnicos y del Pescado y Productos de la Pesca

Dirección: Instituto del Frío
José Antonio Novais, 10
Ciudad Universitaria
28040 Madrid

Teléfono: 915 445 607

Correo electrónico: .sie@if.csic.es.

Página web: www.if.csic.es

Persona de contacto: Margarita Tejada Yábar
Tel.: 915 492 300
Fax: 915 493 627
Correo electrónico: .mtejada@if.csic.es.

Líneas de investigación

- Microscopía electrónica de barrido (SEM) de larvas de *Anisakis* vivas y congeladas.
- Alergias causadas por *Anisakis*.

Proyectos de investigación

- *Título:* Eficacia de distintos tratamientos tecnológicos y culinarios en la mortalidad de las larvas de anisákidos. Efecto del tratamiento sobre el reconocimiento de los alérgenos.
Código: AGL2005-05699-C02-01
Fuente de financiación: MEC
Periodo de ejecución: 2005-2008
- *Título:* Desarrollo de técnicas para evaluar en músculos de pescado la presencia de distintos anisákidos y sus alérgenos.
Código: PIE 2004 7 0E 160
Fuente de financiación: CSIC
Periodo de ejecución: 2005-2007

Departamento de Parasitología

Dirección: Facultad de Farmacia
Universidad Complutense
Avda. Complutense s/n 28040-Madrid

Teléfono: 913 941 815

Página web: www.ucm.es/info/parasito.

Persona de contacto: Carmen Cuellar del Hoyo
Tel.: 913 941 818
Correo electrónico: cuellarh@eucmax.sim.ucm.es.

Líneas de de investigación

- Biología molecular aplicada a estudios de especiación, epidemiología y diagnóstico de la anisakidosis.
- Inmunobiología de la anisakidosis.

Proyectos de investigación

- *Título:* Producción como materia prima para diagnóstico mediante *prick* de un antígeno de *Anisakis simplex*.
Tipo: Convenio de investigación entre la UCM: Departamento de Parasitología e IPI, S.A.
Duración: 1995-98; 98-00, 00-02; 02-04.

Área de Parasitología

Dirección: Departamento Microbiología y Parasitología -Facultad de Farmacia
Universidad de Alcalá de Henares
Ctra. Madrid-Barcelona, Km. 33.600
28871 Alcalá de Henares (Madrid)

Página web: http://www2.uah.es/micro_para/html/parasitologia/web2.htm.

Personas de contacto: Filomena Rodríguez Cabeiro
Tel.: 918 854 637
Correo electrónico: filomena.rodriguez@uah.es.
Inocencia Sánchez Monsalve
Tel.: 91 885 46 38
Correo electrónico: ino.sanchez@uah.es.

Líneas de investigación

- Estudio del fenómeno de resistencia a antihelmínticos en helmintos parásitos.
- Elaboración de salmueras eficientes contra la larva de *Anisakis* (Patente solicitada).

Proyectos de investigación

- *Título:* Establecimiento de los métodos de tratamiento que permitan garantizar la calidad y seguridad de pescados y mariscos con respecto a los parásitos *Anisakis simplex* y *Gymnorhynchus gigas*.
Código: CAL00-011-C2-1
Fuente de financiación: INIA (72.494,08 €)
Periodo de ejecución: 2000-2003

Grupo de Ictioparasitología

Dirección: Departamento de Parasitología, Facultad de Farmacia
Universidad de Granada - Campus de Cartuja
18071 Granada

Teléfono: 958 243 857
Correo electrónico: fparasi@ucartuja.ugr.es.

Página web: www.ugr.es/~parasito/lineas%20de%20investigacion.html.

Persona de contacto: Adela Valero López
Tel./ Fax: 958 243 254
Correo electrónico: .avalero@ugr.es.

Líneas de investigación

- Estudios morfológicos e isoenzimáticos de anisákidos.
- Efectos larvicidas de determinados compuestos de origen vegetal sobre *Anisakis simplex*.

Grupo de Ecología y Biodiversidad Marina (GI ECOBIOMAR)

Dirección: Instituto de Investigaciones Marinas (IIM-CSIC)
Eduardo Cabello 6, 36208 Vigo (Pontevedra)
Teléfono/Fax: 986 23 19 30

Página web: www.iim.csic.es/estructura_seccion.php?secc=16

Personas de contacto: Santiago Pascual del Hierro
Tel.: 986 231 930, ext. 183
Fax: 986 292 762
spascual@iim.csic.es

Líneas de investigación

- Epidemiología de parásitos en especies hospedadoras explotadas comercialmente.
- Parasitología de organismos marinos.
- Patología parasitaria en pesquerías y acuicultura.

Área de tecnología de los productos pesqueros

Dirección: Centro Tecnológico del Mar - Fundación CETMAR
C/Eduardo Cabello s/n
36208 Bouzas (VIGO)

Teléfono: 986 247 047
Fax: 986 296 019

Página web: www.cetmar.org/pop-organizacion.aspx?IdArea=TPP

Persona de contacto: Julio Maroto Leal
Tel.: ext. 84
Correo electrónico: jmaroto@cetmar.org

Líneas de investigación

- Tratamientos con microondas para inactivar parásitos de *Anisakis* tras el eviscerado a bordo.

Proyectos de investigación

- *Título:* Desarrollo de un dispositivo para evitar el descarte de parásitos durante el eviscerado a bordo.
Fuente de financiación: Dirección Xeral de I+D (Xunta de Galicia)
Periodo de ejecución: 04.2005/03.2008
Participantes: Tecnología Marina Ximo SL-MAREXI, Desarrollo Técnicas Industriales Galicia SA-DETEGASA y Grupo de Investigación ECOBIOMAR- Instituto de Investigaciones Marinas- CSIC

Laboratorio de Biología Molecular

Dirección: Centro AztiTecnalia
Txatxarramendi Ugarteaga z/g
48395 Sukarrieta (Bizkaia)

Teléfono: 946 029 400

Página web: www.azti.es

Líneas de investigación

- Detección de *Anisakis simplex* en varias matrices alimentarias mediante la aplicación de la tecnología de PCR.

Grupo de Diagnóstico Molecular en Microbiología Clínica

Dirección: Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Microbiología,
Medicina Preventiva y Salud Pública, Fisiología y Genética.
Facultad de Medicina, Universidad de Cádiz
Plaza Falla, 9
11003 Cádiz

Teléfono: 956 015 214

Correo electrónico: dpto.bmmpfg@uca.es

Página web: http://www2.uca.es/dept/bioq_biol_mole/presentacion.htm

Persona de contacto: Manuel Antonio Rodríguez Iglesias
Tel.: 956 015 181
Fax: 956 015 782
Correo electrónico: manuel.rodriguez Iglesias@uca.es

Proyectos de investigación

- *Título:* Identificación de alérgenos de *Anisakis simplex* mediante técnica de "phage display".
Fuente de financiación: PETRI

Grupo de Parasitología Humana y Animal (GI-1212)

Dirección: Instituto de Investigaciones y Análisis Alimentarios
Departamento de Microbiología y Parasitología
Universidad de Santiago de Compostela
15782 Santiago de Compostela

Página web: <http://imaisd.usc.es/grupoficha.asp?idpersoatipopgrupo=75080&i=gl&s=-2-26-148&v=#membros>

Persona de contacto: Manuel Luis Sanmartín Durán
Tel.: 981 563 100 (ext.14893)
Correo electrónico: mpduran@usc.es

Líneas de investigación

- Estudios sobre la biología parasitaria.
- Patología parasitaria.
- Diagnóstico parasitario.
- Prevención y control de parasitosis humana y animal.

Proyectos de investigación

- **Título:** *Anisakis simplex*: Caracterización molecular y funcional de alérgenos recogidos por anticuerpos monoclonales específicos y su aplicabilidad al diagnóstico.
Fuente de financiación: Proxectos Xunta-Plan Nacional
Periodo de ejecución: 2003-2006

2. Grupos de investigación de hospitales españoles

Sección de Alergia y Unidad de Endoscopia

Dirección: Hospital General Universitario La Paz.
Pº de la Castellana, 261
28046 Madrid

Teléfono: 917 477 144 (Unidad de Adultos)

Correo electrónico: .comunicacion.hulp@salud.madrid.org.

Página web: www.hulp.es

Persona de contacto: M^a Carmen López Serrano

Líneas de investigación

- Actuación patológica ante anisakidosis.
- Diferencias de la anisakiasis gastroalérgica con la anisakiasis gástrica.

Servicio de Alergia

Dirección: Hospital Clínico San Carlos
C/ Martín Lagos s/n
28040 Madrid

Teléfono: 913 303 012

Correo electrónico: .comunicacion.hcsc@salud.madrid.org.

Página web: www.hcsc.es.

Persona de contacto: Montserrat Fernández Rivas
Tel.: 913 303 012
Fax: 913 303 011
Correo electrónico: .mfernandezri.hcsc@salud.madrid.org.

Líneas de investigación

- *Anisakis simplex* como causa de pseudoobstrucción intestinal.
- Niveles séricos de Proteína Catiónica del Eosinófilo (ECP) en el diagnóstico de la anisakidosis.
- Hipersensibilidad al *Anisakis simplex*.

Grupo de Alergias Alimentarias

Dirección: Fundación Jiménez Díaz
Avda. Reyes Católicos, 2
28040, Madrid

Teléfono: 91 550 4800

Correo electrónico: fjd@fjd.es.

Página web: www.capiosanidad.es/fjd/es/investigacion/lineas/alergia.html

Persona de contacto: Javier Cuesta Herranz
Tel.: 915 504 905 (ext.: 3197)
Correo electrónico: jcuesta@fjd.es

Líneas de investigación

- Obtención de extractos naturales purificados de pescados con alto rendimiento y reproducibilidad.
- Evaluación de la alergenicidad de extractos de pescado.
- Aislamiento y caracterización molecular de alérgenos de pescado.

Proyectos de investigación

- **Título:** Aislamiento y clonación de alérgenos de *Anisakis simplex*.
Fecha de ejecución: 2000
- **Título:** Provocaciones conjuntivales como *test* diagnóstico en anisakiasis gastroalérgica.
Fecha de ejecución: 2000

Unidad de Alergología

Dirección: Hospital Universitario de Getafe
Carretera de Toledo. Km 12.500
28905 Getafe Madrid

Teléfono: 916 839 360

Correo electrónico: .comunicacion.hcsc@salud.madrid.org

Página web: www.hospitaluniversitariodegetafe.org

Persona de contacto: Javier Domínguez Ortega
Tel./Fax: 916 839 360 /913 303 011
Correo electrónico: jdort@mixmail.com

Líneas de investigación

- Niveles séricos de ECP en el diagnóstico de la anisakidosis gastrointestinal.
- Hipersensibilidad al *Anisakis simplex*.

Departamento de Alergología e Inmunología

Dirección: Hospital Santiago Apóstol
Olaguibel, 29
01004 Vitoria-Gasteiz (Álava)

Teléfono: 945 007 600

Persona de contacto

María Teresa Audicana
Correo electrónico: .maudicanab@meditex.es

Líneas de investigación

- Manifestaciones reumáticas durante el *shock* anafiláctico producido por *Anisakis simplex*.
- Tratamiento con periodato para alergia a *Anisakis simplex*.
- Utilización de *immunoblotting* de IgE como herramienta de diagnóstico de la alergia a *Anisakis simplex*.
- Cocinado y congelación contra las reacciones alérgicas a los antígenos de *Anisakis*.
- Episodios de anafilaxis causados por pescado parasitado con *Anisakis simplex*.

3. Grupos de investigación extranjeros

Departamento de Zoología

Dirección: University of Otago
340 Great King Street
P.O.Box 56
Dunedin New Zealand

Teléfono: (64) (03) 479-7986

Correo electrónico: .zoology@otago.ac.nz

Página web: www.otago.ac.nz/zoology/contacts.html

Persona de contacto: David Wharton

Correo electrónico: .david.wharton@stonebow.otago.ac.nz

Líneas de investigación

- Respuesta de la larva de *Anisakis* a la congelación.
- Caracterización del *Anisakis* en especies de pescado costero de Nueva Zelanda.

Grupo de Investigación de Ecología y Evolución Molecular.

Dirección: Institute of Biomedical and Life Sciences
Department Environmental & Evolutionary Biology
Graham Kerr Building
University of Glasgow G12 8QQ

Teléfono: +44 (0)141 330 5975

Correo electrónico: .eeb-hod@bio.gla.ac.uk

Página web: www.gla.ac.uk/ibls/II/

Persona de contacto: Dr. Malcolm Kennedy

Tel. /Fax: 0141 330 5819 / 0141 330 5971

Correo electrónico: .M.Kennedy@bio.gla.ac.uk

Líneas de investigación

- Estructura y función de las principales lipoproteínas de nematodos.
- Proteínas alergénicas.

Grupo de Parasitología

Dirección: NIFES, National Institute of Nutrition and Seafood Research
P.O. Box 2029 Nordnes
5817 Bergen Norway

Teléfono/ Fax:: +47 55 90 51 00 / +47 55 90 52 99

Correo electrónico: .postmottak@nifes.no

Página web: www.nifes.no/index.php?page_id=126&lang_id=2

Persona de contacto: Arne Levsen

Tel.: +47 55905127

Correo electrónico: .arne.levsen@nifes.no

Líneas de investigación

- Distribución – en el tiempo y área - de las larvas de *Anisakis* en las especies comerciales de arenque y caballa más importantes de Noruega.
- Virulencia y comportamiento de nematodos parásitos de pescados incluyendo *Anisakis simplex*.
- Evaluación de los métodos de detección de parásitos durante el procesamiento industrial de productos pesqueros.

Anexo II –Patentes

En este apartado se recogen las patentes detectadas de los últimos diez años sobre eliminación y detección de parásitos del pescado, como *Anisakis simplex*. En la primera parte se presenta un breve resumen de las patentes citadas en este informe y, en la segunda, se detallan las patentes detectadas relacionadas con la eliminación y prevención de parásitos en criaderos de peces, como las piscifactorías o bateas.

Patentes sobre la eliminación, detección e inactivación de parásitos del pescado

ES2233194 Elaboración y uso de salmueras que eliminan el riesgo de anisakiosis.

Solicitante: Universidad de Alcalá

Inventores: Armas Serra, Cristina de; Martínez González, Javier; Rodríguez Caabeiro, Filomena y Sánchez Monsálvez, Inocencia Dolores

Fecha de presentación: 9.11.2003

Fecha de publicación: 01.06.2005

Resumen: Consiste en la preparación de salmueras que contengan concentraciones iguales o superiores al 10% de ácido acético y un aditivo alimentario: E-260 (en vez de vinagres comerciales) que destruyan al 100% de las larvas de *Anisakis* sp. Asimismo, se ha previsto el empleo de dichas salmueras en la elaboración de boquerones frescos escabechados siguiendo las recetas tradicionales de boquerones en vinagre con el fin de eliminar el riesgo sanitario que conlleva el consumo de dicho alimento.

ES2213486 Procedimiento para eliminar parásitos del pescado.

Solicitante y inventor: José Antonio Bereciartua Achaga

Fecha de presentación: 13.02.2003

Fecha de publicación: 16.08.2004

Resumen: Procedimiento para eliminar parásitos del pescado, según el cual se somete al pescado recién capturado a una electrocución, bien de forma individualizada cuando se trata de pescados grandes o bien de forma masiva, cuando se trata de pescados pequeños, practicándose dicha electrocución por inmersión del pescado en grandes recipientes con electrolito, donde ánodo y cátodo proporcionan una intensidad que puede variarse en función del tamaño y/o características del pescado a electrocutar y/o del parásito a eliminar.

ES2223261 Método de desparasitismo del pescado fresco y equipo para su ejecución.

Titular: Fondo de Regulación y Organización del Mercado de los Productos de la Pesca y Cultivos Marinos (FROM)

Inventor: Gómez Giraldez, Francisco

Fecha de presentación: 22.01.2003

Fecha de concesión: 02.02.2006

Resumen: El método, que tiene lugar tras el eviscerado del pescado fresco, al objeto de eliminar y destruir los parásitos que pudieran estar acumulados en la cavidad abdominal del pescado. Se caracteriza porque consiste en realizar una succión por vacío, mediante introducción de una boquilla en la cavidad abdominal del pescado, succión que lleva consigo la extracción tanto de los parásitos como del resto de eviscerado, siendo acumulados en un tanque en el que tiene lugar una destrucción térmica de los parásitos, por medios o elementos que pueden estar constituidos por agua caliente o vapor circulante por serpentines, o por resistencias eléctricas. Opcionalmente se puede efectuar la destrucción mediante trituración por medios mecánicos, con objeto de que el tamaño de la partícula sea inferior al de los parásitos menores, teniendo así la seguridad de que ningún parásito sobrevive. El equipo incluye una bomba de vacío que mantiene el tanque a presión inferior a la atmosférica.

RU2264112 Método para elaborar un preparado para sazonar de pescado.

Solicitantes e inventores: Bogdanov V D, Blagonravova M V:

Fecha de publicación: 20-11-2005

Resumen: En esta invención se describe un método que combina baja temperatura y un preparado para sazonar de pescado especial que inactiva parásitos como el *Anisakis simplex*.

WO9641208 Aparato y método para inspección *on-line* de la conductividad eléctrica de diferentes productos alimentarios utilizando un líquido electrolítico.

Titular: Universidad de Alaska y Universidad de Vanderbilt

Inventores: Wikswo Jr John P; Ma Yu P; Jenks William G; Bublitz Christopher G; Choudhury Gour S.

Fecha de publicación: 05-11-1996

Resumen: En la patente se desarrolla un método para detectar parásitos enquistados en alimentos, como filetes de pescado. Para ello el alimento se sumerge en una disolución electrolítica (como una disolución salina) que tenga una conductividad eléctrica similar a la del alimento no contaminado. A continuación una corriente eléctrica pasa a través de la disolución electrolítica y a través del alimento. Las perturbaciones producidas en el campo magnético resultante (discontinuidades de la conductividad) revelan que se ha introducido un artículo contaminado, ya que éste tendrá una conductividad sustancialmente diferente a la disolución o a la del alimento no contaminado.

Patentes sobre el control de parásitos en peces criados en zonas acotadas

JP2006077000 Método para destruir parásitos y prevenir la infestación en peces.

Solicitante: Fuji Flour Milling

Inventor: Kojima Tomokazu; Tanitsu Masahiro; Aoyanagi Kazue; Miyamoto Kazuaki.

Fecha de publicación: 23-03-2006

Resumen: El objetivo de esta invención es destruir los parásitos dañinos del pescado y crustáceos de criaderos y acuarios utilizando un componente natural en su alimentación (compuesto por ácido ferúlico combinado con ácido láctico). Con ello se consigue exterminar los parásitos que viven en las piscifactorías y acuarios para prevenir la infestación.

JP2005350429 Aditivo alimentario para prevenir y destruir parásitos marinos.

Solicitante: Yodo Shiryō Co Ltd.

Inventor: Tanaka Yutaka; Mashima Takeshi; Mochizuki Koji; Ueki Misao.

Fecha de publicación: 22-12-2005

Resumen: El objetivo es proporcionar un aditivo seguro y efectivo en la alimentación de peces criados en zonas como las piscifactorías para prevenir y exterminar los parásitos marinos. Este aditivo contiene polifenoles de uvas.

JP2005278603 Método para eliminar parásitos de pescado.

Solicitante e inventor: Tofuji Naoki

Fecha de publicación: 13-10-2005

Resumen: El objetivo de esta invención es proporcionar un método para eliminar parásitos presentes en el agua que afectan a los peces mediante filtración (con un filtro de un determinado diámetro).

JP2002306083 Alimento para crustáceos y peces.

Solicitante: Daiichi Seimou Co Ltd.

Inventor: Okuzono Kazuhiko; Yamamoto Tetsuya.

Fecha de publicación: 22-10-2002

Resumen: Proporcionar un alimento para peces y crustáceos que sea capaz de prevenir y solventar la infestación. El alimento tiene como ingrediente activo ácido peracético.

JP2002281858 Método para eliminar parásitos.

Solicitante: Fisheries Res. Agency

Inventor: Shigeta Toshitaku; Usu Hironori.

Fecha de publicación: 02-10-2002

Resumen: En esta invención se proporciona un método para eliminar parásitos adheridos a la superficie corporal de los peces de piscifactoría.

EP1153546 Ácido delta-aminolevulínico para prevenir y tratar la infección producida por microorganismos y parásitos.

Solicitante: Kim Hyeungrak; Kim Jaeho; Oh Myungjoo.

Inventor: Kim Hyeungrak; Kim Jaeho; Oh Myungjoo; Byun Daeseok.

Fecha de publicación: 14-11-2001.

Resumen: Esta invención desarrolla un método en el que se utiliza ácido delta-aminolevulínico para prevenir y tratar la infección producida por microorganismos y parásitos. Particularmente se puede aplicar en peces que permanezcan en un lugar acotado, como una piscifactoría.

JP11092309 Eliminación de parásitos de pescado.

Solicitante: Kyowa Hakko Kogyo Kk; Bayer Kk.

Inventor: Nakagawa Atsushi; Hatayama Yukihiro; Emoto Hideji.

Fecha de publicación: 06-04-1999

Resumen: En esta patente se desarrolla un método para eliminar parásitos de peces de criaderos. Consiste en proporcionar un componente activo a los peces que destruye los parásitos.

En cuanto al problema de parasitismo en criaderos de peces se puede observar que, al menos en cuanto a patentes, se ofrecen múltiples soluciones. Esto se debe a que los peces criados en cautividad se pueden alimentar con diferentes compuestos que son efectivos contra la larva de *Anisakis* o se pueden mantener alejados de los parásitos por medio de filtros que no les permiten el paso.

Anexo III – Procesos culinarios para inactivar la larva de *Anisakis*

El centro tecnológico AZTI ha realizado un estudio (19) en el que se evalúan los tiempos que se necesitan en diferentes procesos culinarios para destruir las larvas de *Anisakis* presentes en diversos despieces de la merluza.

Para este estudio se han clasificado las piezas de merluza como se muestra en la siguiente tabla:

DESPIECE	PEQUEÑA	MEDIANA	GRANDE
Entera	< 500	500-1200	> 1200
Cola	< 300	300-600	> 600
Cogote	< 300	300-500	> 500
Lomo	< 200	200-350	> 350
Rodaja	< 100	100-200	> 200

Los métodos culinarios utilizados en el estudio han sido: la fritura, el horno convencional, la cocción y la cocción en salsa, el cocinado a la brasa y el cocinado a la plancha.

En las tablas expuestas a continuación se especifican los tiempos mínimos para destruir las larvas de *Anisakis*.

FRITURA			
PIEZA	Pequeña	Mediana	Grande
Cola	8 min	25 min	30 min
Cogote	7 min	10 min	15 min
Lomo	6 min	9 min	12 min
Rodaja	5 min	8 min	10 min

Tabla 1. Fritura. Tiempos para piezas que se han volteado una vez y se han comenzado a freír a 160° C. Se recomienda para piezas menores de 700 g.

HORNO			
PIEZA	Pequeña	Mediana	Grande
Entera	15 min	20 min	30 min
Cola	13 min	18 min	25 min
Cogote	12 min	16 min	25 min
Lomo	10 min	13 min	15 min
Rodaja	10 min	13 min	15 min

Tabla 2. Asado en horno convencional. Necesario precalentamiento a 200 ° C.

COCCIÓN			
PIEZA	Pequeña	Mediana	Grande
Cogote	7 min	10 min	--
Lomo	6 min	8 min	10 min
Rodaja	4 min	6 min	8 min

Tabla 3. Cocción. Recomendado para piezas inferiores a 500 g. El tiempo comienza a contar a partir de la ebullición del agua.

EN SALSA			
PIEZA	Pequeña	Mediana	Grande
Cogote	8 min	15 min	--
Lomo	15 min	20 min	25 min
Rodaja	12 min	18 min	20 min

Tabla 4. Cocción en salsa. Las piezas se han de cambiar de posición si se cocina en cazuela de barro.

BRASA			
PIEZA	Pequeña	Mediana	Grande
Entera	22 min	35 min	45 min
Cola	15 min	25 min	30 min
Cogote	15 min	25 min	30 min
Lomo	5 min	8 min	12 min
Rodaja	5 min	10 min	13 min

Tabla 5. Asado en a la brasa.

PLANCHA			
PIEZA	Pequeña	Mediana	Grande
Entera	22 min	35 min	--
Cola	18 min	25 min	30 min
Cogote	15 min	25 min	30 min
Lomo	9 min	12 min	15 min
Rodaja	8 min	10 min	13 min

Tabla 6. Asado a la plancha. Tiempos para piezas que se han comenzado a cocinar con la plancha caliente y se han volteado una vez.

Anexo IV. Presencia de larvas de anisákidos en peces de consumo habitual en España.

El siguiente cuadro se ha elaborado con datos procedentes de diferentes estudios difíciles de interrelacionar, por lo que solamente son orientativos.

Para extraer cierta información concluyente sería aconsejable realizar una memoria unificando los diversos estudios sobre la biogeografía de los representantes de la familia *Anisakidae* y la proporción de parásitos en peces diana, caladeros y *stocks*. Como este estudio no encaja dentro de los objetivos del presente informe, si ADEPESCA está interesada puede ponerse en contacto con los diferentes grupos de investigación detallados en el anexo I de este informe que posiblemente podrían realizar un estudio de este tipo y llegar a un acuerdo con la asociación.

Merluza (<i>Merluccius merluccius</i>)	Bacaladilla (<i>Micromesistius poutassou</i>)	Jurel (<i>Trachurus trachurus</i>)	Boquerón (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	Sardina (<i>Sardina pilchardus</i>)	Arenque (<i>Clupea harengus</i>)	Congrio (<i>Conger coger</i>)	Salmón (<i>Salmo salar</i>)	Caballa (<i>Scomber scombrus</i>)	Ref.
-	-	-	-	-	65%	-	-	-	(35)
30-95%	62,69%		0-9,34%	0-11,67%	-	-	75%	-	(5)*.
-	-	16,6-63,6%	-	-	65-10,3%	-	83,3%	26-87%	(1)
-	-	-	-	-	78-97%	-	64%	-	(25)*.
88,6%	30,3%	19,8%	0%	0%	-	-	-	-	(36)
23,2%	-	42%	0%	0%	-	75%	-	32%	(37)
45,4%	88,1%	54,3%	2,1%	0%	-	-	-	-	(38)
-	67,9-10,63%	27,5%	-	0,9%	-	-	-	-	(39)
-	-	39,4%	-	-	-	-	-	-	(40)
-	63-70%	44-67%	-	10%	-	-	-	-	(41)
71,5%	85,5%	60%	0%	0%	-	-	-	-	(42)
27,5%	42%	0%	5,6%	0%	-	-	-	20,6%	(43)

*Los datos recopilados de estos dos artículos corresponden a estudios de diferentes autores referenciados en dichos artículos.

Aunque en la tabla anterior no se tienen en cuenta los lugares donde se han capturado los peces, según estudios recientes la situación del caladero es un dato muy importante para conocer el estado de infestación de los peces por regiones. Un estudio llevado a cabo en la Universidad de Granada (44) revela que los peces capturados en el Mediterráneo muestran tasas de parasitismo mucho menores que los capturados en el Atlántico. Por ello, es conveniente que se realicen más estudios sobre las zonas en las que se encuentran más peces parasitados y que se tenga en cuenta para faenar.

Anexo V. Metodología.

Vigilancia tecnológica en el Sector de la Pesca

La vigilancia tecnológica es un proceso dinámico que se debe alimentar continuamente. Por ello, se le proporciona a ADEPESCA una serie de enlaces a bases de datos de publicaciones científicas, patentes, proyectos de investigación y grupos de investigación, para que pueda continuar con el proceso de vigilancia, así como portales de interés para el sector sobre legislación, noticias, ayudas y subvenciones, eventos, etc.

1. Publicaciones científicas

1.1 Buscadores científicos

Para la elaboración de este informe fundamentalmente se han utilizado dos buscadores científicos:

- *Scirus*: buscador de publicaciones científicas y de páginas web de contenido científico. (www.scirus.com)
- *Isi Web of knowledge*: índices de impacto de las revistas científicas, citas de cada artículo o autor y listados de investigadores relevantes en cada materia. Permite la búsqueda de artículos científicos a través de las citas. Requiere suscripción. (La mayor parte de los centros de investigación en España tienen acceso desde el 2004). (<http://portal.isiknowledge.com>)

Y las siguientes bases de datos que pertenecen a diferentes editoriales *on-line* de revistas científicas (requieren suscripción):

- *Science Direct* (www.sciencedirect.com)
- *Springer* (www.springerlink.com)
- *Blackwell publishing* (www.blackwellpublishing.com)

Palabras clave

Las principales palabras clave que se han utilizado para realizar las búsquedas sobre *Anisakis simplex* en las bases de datos de revistas científicas, patentes y proyectos son las siguientes:

Castellano	Inglés
<i>Anisakis simplex</i>	Anisakidae
Anisákidos	Fish parasite
Parásitos y pescado	Worm fish
Nematodos	Nematode
Anisakiosis	Whale worm
Anisaquiosis	Parasite inactivation
Anisakiasis	
Anisaquiasis	

1.2 Revistas científicas especializadas

En este apartado se han incluido algunas de las revistas en las que pueden aparecer artículos relacionados con el sector de la pesca y *Anisakis simplex*.

Revistas especializadas en el sector de la pesca

Aquaculture

[.www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/503302/description#description](http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/503302/description#description).

Aquacultural Engineering

[.www.aesweb.org](http://www.aesweb.org).

Fisheries Research

[.www.elsevier.com/locate/fishres](http://www.elsevier.com/locate/fishres).

Fish & Shellfish Immunology

[.www.ingentaconnect.com/content/ap/fi](http://www.ingentaconnect.com/content/ap/fi).

ICES Journal of Marine Science

[.www.ices.dk/products/icesjournal.asp](http://www.ices.dk/products/icesjournal.asp).

Revistas especializadas en parasitología y alergias

Molecular Immunology

[.www.mi.interhealth.info](http://www.mi.interhealth.info).

Trends in Parasitology

[.www.trends.com/pt/default.htm](http://www.trends.com/pt/default.htm).

Experimental Parasitology

[.www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/622829/description#description](http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/622829/description#description).

Parasitology International

[.www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/600111/description#description](http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/600111/description#description).

Journal of Allergy and Clinical Immunology

[.http://journals.elsevierhealth.com/periodicals/ymai](http://journals.elsevierhealth.com/periodicals/ymai).

Phytomedicine

[.www.elsevier.de/phymed](http://www.elsevier.de/phymed).

International Journal for Parasitology

[.http://authors.elsevier.com/JournalDetail.html?PubID=353&Precis](http://authors.elsevier.com/JournalDetail.html?PubID=353&Precis).

Digestive and Liver Disease

[.www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/623449/description#description](http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/623449/description#description).

Clinical Gastroenterology and Hepatology

[.www.us.elsevierhealth.com/product.jsp?isbn=15423565](http://www.us.elsevierhealth.com/product.jsp?isbn=15423565).

Molecular and Biochemical Parasitology

[.www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/506086/description#description](http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/506086/description#description).

Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique

[.www.elsevier.fr/html/detrevue.cfm?code=IM](http://www.elsevier.fr/html/detrevue.cfm?code=IM).

Veterinary Parasitology

[.www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/503321/description#description](http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/503321/description#description).

Revistas generales sobre tecnología de alimentos

Critical Reviews in Food Science and Nutrition

[.www.tandf.co.uk/journals/titles/10408398.asp](http://www.tandf.co.uk/journals/titles/10408398.asp).

European Food Research and Technology

[.http://link.springer.de/link/service/journals/00217/index.htm](http://link.springer.de/link/service/journals/00217/index.htm).

European Journal of Nutrition

[.www.steinkopff.springer.de/journal/394](http://www.steinkopff.springer.de/journal/394).

Food Additives and Contaminants

[.www.tandf.co.uk/journals/titles/0265203X.html](http://www.tandf.co.uk/journals/titles/0265203X.html).

Food and Agricultural Immunology

[.www.tandf.co.uk/journals/titles/09540105.html](http://www.tandf.co.uk/journals/titles/09540105.html).

Food and Chemical Toxicology

[.www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/237/description#description](http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/237/description#description).

International Journal of Food Properties

[.www.tandf.co.uk/journals/titles/10942912.asp](http://www.tandf.co.uk/journals/titles/10942912.asp).

Journal of Nutritional Biochemistry

[.www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/525013/description#description](http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/525013/description#description).

Journal of Food Processing and Preservation

[.www.blackwellpublishing.com/journal.asp?ref=0145-8892](http://www.blackwellpublishing.com/journal.asp?ref=0145-8892).

Journal of Food Protection

[.www.foodprotection.org](http://www.foodprotection.org).

Journal of Food Quality

[.www.blackwellpublishing.com/journal.asp?ref=0146-9428](http://www.blackwellpublishing.com/journal.asp?ref=0146-9428).

Journal of Food Safety

[.www.blackwellpublishing.com/journal.asp?ref=0149-6085](http://www.blackwellpublishing.com/journal.asp?ref=0149-6085).

Journal of Food Science

[.http://members.ift.org/IFT/Pubs/JournalofFoodSci](http://members.ift.org/IFT/Pubs/JournalofFoodSci).

Journal of Food Biochemistry

[.www.blackwellpublishing.com/journal.asp?ref=0145-8884](http://www.blackwellpublishing.com/journal.asp?ref=0145-8884).

Journal of Food Engineering

[.www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/405862/description#description](http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/405862/description#description).

Journal of Food Lipids

[.www.blackwellpublishing.com/journal.asp?ref=1065-7258](http://www.blackwellpublishing.com/journal.asp?ref=1065-7258).

Molecular Nutrition & Food Research

[.http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/jhome/109582333?CRETRY=1&SRETRY=0](http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/jhome/109582333?CRETRY=1&SRETRY=0).

Journal of Nutrition

[.http://jn.nutrition.org/](http://jn.nutrition.org/)

Nutrition Research Reviews

[.www.cabi-publishing.org/journals/NRR/Index.asp](http://www.cabi-publishing.org/journals/NRR/Index.asp).

Nutrition Reviews

[.www.ingentaconnect.com/content/ilsi/nure;jsessionid=5e8pc47mrgm54.victoria](http://www.ingentaconnect.com/content/ilsi/nure;jsessionid=5e8pc47mrgm54.victoria).

Sciences des Aliments

www.lavoisier.fr/fr/revues/index.asp?texte=ALIMENTS&select=motcle&exact=on&togo

Trends in Food Science & Technology

[.www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/601278/description#description](http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/601278/description#description).

Entre las publicaciones detectadas tres de las más relevantes (*) son las siguientes:

- Anisakiosis y alergia: un estudio seroepidemiológico de la Comunidad Autónoma Gallega. *Documentos técnicos de Saúde Pública, Serie B nº24. (2)*
- Osanz Mur, A.C. (Bellaterra, Julio 2001). Tesis Doctoral: Presencia de larvas de anisákidos (*Nematoda: Ascaridoidea*) en pescado de consumo capturado en la zona pesquera de Tarragona. (1)
- Domínguez Ortega, J; Martínez-Cócera, C. (2000). Guía de actuación en patología producida por *Anisakis*. *Alergología e Inmunología Clínica*, 15, p.267-272. (26)

(*) Estos documentos se consideran los más relevantes porque:

- están escritos en lengua española para que cualquier asociado pueda acceder a ellos sin los impedimentos causados por el idioma
- son los documentos escritos en castellano a los que más se ha recurrido para la realización del presente informe.

2. Patentes

Una patente es un título otorgado por el Estado que concede un derecho de explotación exclusivo de una invención en todo el territorio nacional por un periodo de tiempo determinado. Es decir, con la concesión de una patente se excluiría a otros de fabricar, usar, vender o importar la invención. Para que un producto o proceso sea patentable es necesario que cumpla ciertos requisitos:

- Novedad: no debe existir publicación alguna que incluya el tema que se desee patentar y no debe haber patentes publicadas que recojan reivindicaciones o descripciones técnicas que se deseen patentar.
- Actividad inventiva: no ha de ser obvio para un experto en la materia.
- Aplicación industrial.

Para hacer búsquedas de patentes y solicitudes de patente se puede recurrir a las siguientes bases de datos gratuitas:

-WIPO (www.wipo.int). Organización mundial de propiedad intelectual.

Tiene un buscador de patentes de todos los países.

-EPO (www.european-patent-office.org).

Oficina Europea de Patentes. Tiene un buscador que permite buscar patentes de numerosos países, además de las europeas (Esp@cenet <http://ep.espacenet.com>).

-Depatisnet (www.depatistnet.de). Buscador de patentes de todo el mundo proporcionado por la Oficina Alemana de Patentes y Marcas.

-USPTO (www.uspto.gov). Oficina de Patentes y Marcas Estadounidense.

Tiene un buscador de patentes estadounidenses.

-OEPM (www.oepm.es). Oficina Española de Patentes y Marcas.

Tiene un buscador de patentes españolas y europeas.

-JPO (www19.ipdl.ncipi.go.jp/PA1/cgi-bin/PA1INIT?1164975575421). Oficina Japonesa de Patentes.

Tiene un buscador de patentes japonesas (solamente están traducidos al inglés los resúmenes)

Para hacer búsquedas generales, de todo el mundo, se puede destacar *Espacenet*, que es un buscador más intuitivo y accesible que otros.

A la hora de buscar patentes se pueden realizar búsquedas por:

- La empresa que patenta.
- El inventor.
- El número de publicación o solicitud.
- Palabras clave (algunas de las utilizadas por el CIBT se recogen en el apartado 1 de este anexo).
- Los códigos de la clasificación internacional de patentes (*International Patent Classification, IPC*). (www.wipo.int/classifications/ipc/ipc8/). Esta clasificación se hace mediante categorías, dentro de ellas, en varias áreas. Para buscar patentes relacionadas con los productos de la pesca los códigos de la IPC son los siguientes:
 - Piscicultura: A01K 61/00, A01K 63/00.
 - Pesca con red: A01K 69/00 - A01K 75/00.
 - Pesca con caña:
 - Cañas de pesca; Carretes: A01K 87/00; A01K 89/00.
 - Sedales: A01K 91/00; A01K 83/00, A01K 85/00, A01K 93/00, A01K 95/00.
 - Accesorios: A01K 97/00.
 - Otros tipos de pesca: A01K 69/00, A01K 77/00, A01K 81/00, A01K 99/00.
 - Tratamiento del pescado, mariscos y crustáceos: A22C 25/00, A22C 29/00.

Entre las patentes detectadas las más relevantes son las siguientes:

- **ES2213486**: Procedimiento para eliminar parásitos del pescado.
- **ES2223261**: Método de desparasitismo del pescado fresco y equipo para su ejecución.
- **WO9641208**: Aparato y método para inspección *on-line* de la conductividad eléctrica de diferentes productos alimentarios utilizando un líquido electrolito.

3. Proyectos de investigación

A través de los proyectos concedidos se puede tener una visión general de la tendencia en las investigaciones en un determinado sector y qué tipo de productos/ aplicaciones reciben más ayudas y subvenciones.

Para realizar búsquedas de proyectos recomendamos consultar los siguientes enlaces:

- Proyectos financiados por la UE: CORDIS
<http://cordis.europa.eu/search/index.cfm?dbname=proj>.
- Proyectos nacionales:
 - MEC www.mec.es/ciencia/proyectos/.
 - CDTI www.centrorecursos.com/mapas/ayudas/

Las búsquedas se pueden hacer por palabras clave, institución, investigador, etc.

4. Grupos de investigación

Es recomendable conocer los grupos de investigación que trabajan con actividades relacionadas con la asociación para poder contratar sus servicios en un momento dado. En la web se pueden visitar algunos buscadores que facilitan información de este tipo:

- En el buscador de Madrid+d, en la sección de "Investigadores", se puede seleccionar "grupos de investigación", y a través de alguna palabra clave se puede encontrar los grupos con líneas de investigación de interés.

<http://buscador.madrimasd.org/BuscadorMadrimasd/default.asp>.

- En las Oficinas de Transferencia Tecnológica (OTT) y las Oficinas de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI) de diferentes universidades y centros de investigación se pueden encontrar listados con los diferentes grupos de investigación que forman parte de ellos. Algunos ejemplos son:

- OTT del Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
www.csic.es/ott
- OTRI de la Universidad Complutense de Madrid.
www.ucm.es/info/otri
- OTRI del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria.
www.inia.es/OTRIoferta05/ES/Web/indices/02.htm

5. Ayudas y subvenciones

En los siguientes portales puede encontrar buscadores y bases de datos que ofrecen información para solicitar ayudas y subvenciones. Se incluyen tanto buscadores regionales como nacionales y europeos.

Acceso a Bases de Datos de Ayudas y Subvenciones.

www.ayudas.net/indexie.html

Buscador de Ayudas. La búsqueda puede hacerse por áreas geográficas, temáticas, descriptores o palabras-clave, fecha de publicación y aprobación de la convocatoria. Es necesario registrarse previamente.

www.skilldigital.com/buscador.asp

Ayudas y subvenciones de la Consejería de Economía e Innovación Tecnológica.

www.madrid.org/ayudas_economia

Instituto Madrileño de Desarrollo (IMADE). Contiene información sobre procedimientos de tramitación y obtención de subvenciones y un listado de ayudas vigentes.

www.imade.es

Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial (CDTI).

www.cdti.es

Ministerio de Educación y Ciencia.

www.mec.es/ciencia/becas

CORDIS. Página del programa *INNOVATION* de la Comisión Europea. El objetivo de este programa es mejorar el acceso de PYMES a nuevas tecnologías y procesos de innovación.

www.cordis.lu/innovation-smes/home.html

Eu-Agrinet. Portal de la Comisión Europea sobre investigación en agricultura. Contiene ayudas a PYMES.

http://europa.eu.int/comm/research/agriculture/index_en.html

EUREKA. Red Europea de Investigación y Desarrollo Industrial. Asesora sobre financiación, búsqueda de socios, promoción de proyectos y resultados.

www.eureka.be

European Science Foundation (ESF). Ofrece ayudas para participación en foros europeos

www.esf.org