



APROMAR

Asociación Empresarial
de Productores de Cultivos Marinos

**Evaluación de la presencia de nematodos
del genero Anisakis en los pescados de
acuicultura marina españoles**

INFORME FINAL

Enero 2012

APROMAR

Aptdo. Postal 266; Ctra. Marquesado Km. 3,400; 11130 Chiclana; Cádiz
Tlf: 956.404.216; Fax: 956.403.388
www.apromar.es; info@apromar.es

Proyecto financiado mediante la convocatoria de ayudas para acciones colectivas de interés público establecidas por la Secretaría General del Mar del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino del Gobierno de España en base a los Reglamentos (CE) 1198/2006 y 744/2008 para las entidades asociativas del sector pesquero extractivo y acuícola de ámbito nacional o supraautonómico, según bases reguladoras de la Orden ARM/1193/2009, modificada en la Orden ARM/2024/2009 y según ARM/2368/2009 que aprueba la convocatoria.

Este estudio ha sido realizado para APROMAR por:

Dra. Margarita Tejada Yábar
INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS Y NUTRICION (ICTAN)
(Antiguo Instituto del Frío)
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)
c/ José Antonio Novais, 10
28040 Madrid

D. Jordi López Ramon
AGRUPACIÓN DE DEFENSA SANITARIA DE ACUICULTURA DE LA COMUNITAT
VALENCIANA (ADS ACUIVAL)
Camí de la Font, s/n
46688 Polinyà de Xúquer
Valencia

PROYECTO FINANCIADO POR:



UNION EUROPEA
Fondo Europeo
de Pesca (FEP)



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE AGRICULTURA, ALIMENTACIÓN
Y MEDIO AMBIENTE



Índice

1. Introducción

- 1.1 Acuicultura en el Mundo
- 1.2 Acuicultura en la Unión Europea
- 1.3 Acuicultura en España
- 1.4 Infestaciones parasitarias en peces
 - 1.4.1 Anisakis
 - 1.4.2 Anisakiasis: Infestación y alergia en humanos
 - 1.4.3 Normativa española y europea
 - 1.4.4 Prevalencia e infestación de pescado por Anisakis
 - 1.4.5 Localización preferente en cefalópodos y peces marinos
 - 1.4.6 Estudios en pescado de acuicultura

2. Cálculo muestral

- 2.1 Tamaño de la muestra
- 2.2 Calendario de muestreo
- 2.3 Estudio estadístico para el muestreo

3. Muestreo

- 3.1 Protocolo de muestreo
- 3.2 Datos obtenidos de los peces
- 3.3 Localización de las granjas muestreadas
- 3.4 Temporalidad del muestreo
- 3.5 Temperatura del agua de cultivo
- 3.6 Distribución de pesos y longitudes
- 3.7 Distribución de edad

4. Estudios de prevalencia e intensidad de parasitación por larvas L3 de *Anisakis*

- 4.1 Metodología empleada
- 4.2 Estudios realizados en cada individuo

5. Resultados y conclusiones

- 5.1 Resultados y discusión
- 5.2 Conclusiones

6. Anexos

- I Tabla resumen de resultados.
- II Plantilla de encuesta en granja.
- III Plantilla de datos en muestreo y procesado.
- IV Plantilla de recepción de muestras en laboratorio CSIC
- V Plantilla de datos generales de detección de *Anisakis* en CSIC
- VI Plantilla de datos de digestión de muestras en CSIC

7. Referencias

1. Introducción

1.1 Acuicultura en el mundo

La producción mundial de acuicultura se ha incrementado desde apenas 600.000 toneladas en 1950 a más de 73 millones de toneladas y un valor superior a 88.000 millones de euros en 2009, último año del que se dispone de información de FAO (2011). Durante las últimas décadas ha sido la producción agroalimentaria que mayor crecimiento ha tenido.

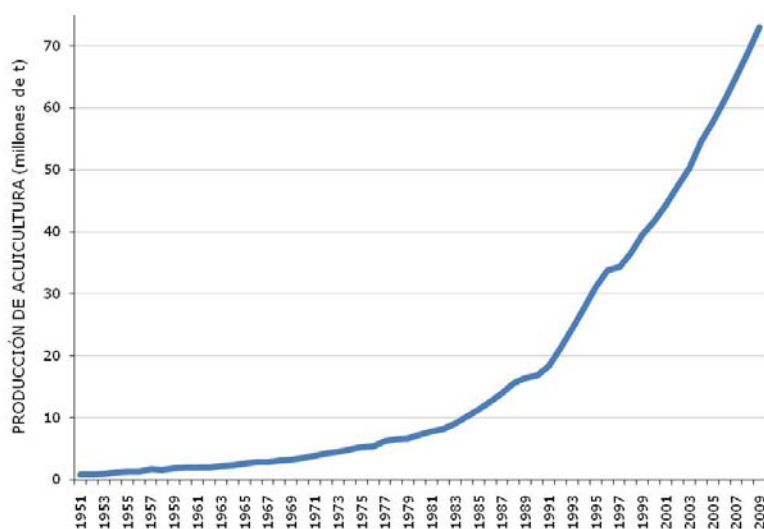


Figura 1. Evolución de la producción de acuicultura mundial en el periodo 1950-2009 (FAO, 2011).

En 2009 el consumo per cápita mundial de productos acuáticos ha sido calculado por FAO en 17,1 kg. Como término medio, la oferta total de productos acuáticos para consumo humano ha aumentado un 3,1 % anual desde 1961, mientras que la población ha aumentado en el mismo periodo un 1,7 %. Los productos acuáticos son actualmente una de las más importante fuentes de proteína animal del mundo, representando el 28% del total de la proteína ingerida en los países en vías de desarrollo y el 14% en Europa y Norteamérica.

La acuicultura juega un importante papel en los esfuerzos por eliminar el hambre y la malnutrición en el mundo al proveer alimentos ricos en proteínas, aceites, vitaminas y minerales. Es especialmente destacable la contribución de los aceites poli-insaturados omega-3 del pescado a la salud y calidad de vida de las personas. Además, puede contribuir a reducir la pobreza mejorando los ingresos económicos, fomentando el comercio local e internacional, proveyendo divisas, ofreciendo oportunidades de empleo y mejorando los retornos sobre el uso de los recursos.

La mitad de toda la producción mundial de la acuicultura en 2009 consistió en peces (49,4%), pero todos los grupos de especies (vegetales, moluscos, crustáceos, anfibios, reptiles e invertebrados) han tenido incrementos en sus producciones.

La principal especie producida en acuicultura en el mundo es el alga laminaria japonesa o wakame (*Undaria pinnatifida*), con 4,9 millones de toneladas en 2009.

La segunda es la carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*), con 4,1 millones de toneladas. En relación con el valor de la producción es, sin embargo, el langostino blanco (*Litopenaeus vannamei*) la principal especie, con 7.374 millones de euros, seguido por el salmón atlántico (*Salmo salar*), con un valor de 5.140 millones de euros.

1.2 Acuicultura en la Unión Europea

La acuicultura es una fuente relevante de productos acuáticos de calidad en Europa. En la Unión Europea en 2009 se produjeron 1.276.170 toneladas de productos de la acuicultura, según las estadísticas de FAO. Esta producción tuvo un valor en primera venta de 3.454 millones de euros. Sin embargo, su importancia no es igual en todos los países de la UE. En algunos su relevancia económica y social supera ya a la de la pesca, como también ocurre en España en algunas Comunidades Autónomas. La acuicultura desempeña un papel muy significativo en el desarrollo social y económico de determinadas zonas costeras y fluviales, además de en la preservación de la cultura marítima y pesquera de estas mismas zonas.

España es el Estado Miembro de la UE con una mayor producción en acuicultura medida en toneladas, con 266.479 t en 2009 (20,9% del total de la UE), seguido por Francia con 234.008 t (18,3%) y el Reino Unido con 179.093 t (14,0%). Sin embargo, cuando se considera el valor de la producción, Francia es el principal Estado Miembro productor con 767 millones de euros (22,2% del valor total), seguido por Italia con 529 millones de euros (15,3%) y el Reino Unido con 527 millones (15,3%). Su valor en España en 2009 fue de 413 millones de euros.

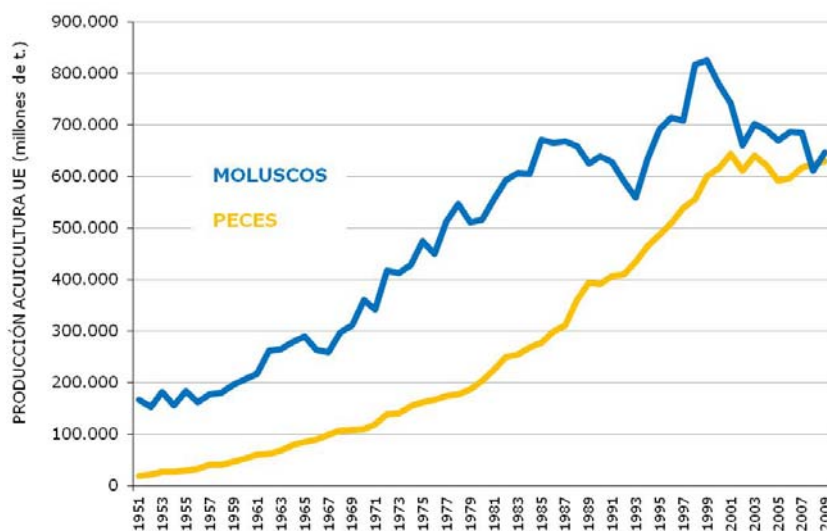


Figura 2. Evolución de la producción de acuicultura (millones de t.) en la Unión Europea por grupos para el periodo 1950-2009 (FAO, 2011).

En la Unión Europea los principales productos de la acuicultura son los pescados de alto valor comercial y los moluscos. La producción de peces supuso el 49,3% en peso y el 69,4% en valor de la producción acuícola total, mientras que los moluscos supusieron el 50,6% y 30,4% respectivamente.

En 2009 se produjeron en la Unión Europea 629.401 t de pescado de acuicultura, un 0,9% más que en 2008. Su valor total en primera venta fue de 2.398 millones de euros, con un valor medio de 3,81 Euros/kg. La principal especie de pescado de crianza producido en la Unión Europea es la trucha arco iris, de la que en 2009 se produjeron 195.544 toneladas (32,1% del total de pescados de acuicultura). La

segunda especie es el salmón atlántico, con 146.424 toneladas (23,3% del total). Y la tercera la dorada con 96.419 t (15,3%).

1.3 Acuicultura en España

Situación de la acuicultura en general en España

La acuicultura en España produjo 292.134 toneladas en 2009, según JACUMAR (2011). De esta cifra el 94,8% fueron producidas en aguas marinas y un 5,2% en aguas continentales. El valor del conjunto de estas producciones fue superior a los 354 millones de euros. En relación con los grupos de especies producidas, los moluscos son el más relevante, con el 79,8%, siendo el mejillón la principal especie con 228.596 t en 2009. Los peces, con el 20,1%, fueron el segundo grupo, con la dorada como primera especie sumando 21.318 t. Cantidades muy minoritarias (inferiores al 0,01%) fueron producidas de crustáceos, algas, cnidarios, tunicados y equinodermos completan la producción de acuicultura en España.

Especie	2008	2009
Mejillón mediterráneo	192.859	228.596
Dorada	20.744	21.319
Trucha Arco Iris	17.997	14.959
Lubina	8.980	11.548
Rodaballo	7.129	7.628
Atún rojo del Atlántico	2.567	1.382
Almeja japonesa	1.824	1.372
Ostión japonés (Ostra rizada)	1.133	1.197
Corvina	450	1.088
Ostra (Ostra Plana) europea	759	784
Berberecho común	2.398	608
Anguila europea	460	493
Almeja babosa	529	249
Almeja fina	384	213
Besugo	200	184
Mújoles	119	134
Camarones palemónidos nep	69	93
Trucha marina	0	91
Langostino japonés	44	58
Lenguado común	45	47
Laminarias nep	0	40
Pulpo común	28	10
Lenguado senegalés	9	9
Tenca	29	6
Esturión del Adriático	150	5
Zamburiña	3	4
Volandeira	3	4
Argazo Real	10	3
Cañaila	0	2
Salmón del Atlántico	0	2
Abadejo	6	0
Total	258.937	292.135

Tabla 1. Producción de acuicultura en España (toneladas) para 2008 y 2009 desglosada por especies (JACUMAR 2011).

Espece	2008	2.009
Mejillón mediterráneo	88.537.374	92.921.414
Dorada	69.335.869	73.619.412
Rodaballo	48.577.560	57.285.706
Lubina	49.384.730	55.879.507
Trucha Arco Iris	42.566.317	27.776.030
Atún rojo del Atlántico	36.981.875	14.042.929
Almeja japonesa	13.022.620	7.997.251
Ostra europea (plana)	3.637.244	4.266.993
Anguila europea	3.696.228	4.047.959
Corvina	1.882.436	3.734.625
Almeja fina	6.841.883	3.452.449
Berberecho común	6.679.400	2.252.725
Ostión japonés (rizada)	1.755.609	1.937.215
Baila	0	1.414.998
Langostino japonés	1.050.283	1.213.184
Microalga (N. gaditana)	607.500	607.500
Mújoles	481.592	513.446
Lenguado común	423.620	463.646
Camarones palemónidos nep	181.750	246.902
Trucha marina	0	221.022
Lenguado senegalés	79.426	120.804
Laminarias nep	0	60.000
Pulpo común	162.788	54.921
Tenca	270.825	54.000
Navaja	34.738	40.759
Microalga (T. chuii)	33.750	33.750
Microalga (P. tricornutum)	33.750	33.750
Zamburiña	37.680	16.087
Escupiña grabada	28.239	14.747
Cañaila	0	14.700
Volandeira	11.364	12.450
Pez de limón (Seriola)	3.104	9.954
Salmón del Atlántico	0	3.243
Almeja babosa	4.678.395	2.319
Argazo Real	9.627	2.240
Camaron común	0	2.200
Abadejo	23.999	735
Sargo	410	476
Busano	0	288
Total	384.817.031	354.372.336

Tabla 2. Valor de la producción de acuicultura en España (primera venta, en euros) para 2008 y 2009 desglosada por especies (JACUMAR 2011).

El número de personas ocupadas en la acuicultura en España en 2008 fue de 26.322, según la Subdirección General de Estadística del MARM. De ellos el 95,9% en la marina y el 4,1% restante en la continental, y siendo el 69,7% varones y el 30,3% mujeres.

El número de establecimientos de acuicultura autorizados en España en 2008 ascendió a 5.295 centros. De estos, el 95,8% operando con aguas marinas y el 4,2% con aguas dulces continentales.

Acuicultura de peces en España

En España se produjeron en 2009 58.896 toneladas de pescado de acuicultura. Las principales especies han sido la dorada, la trucha arco iris, la lubina y el rodaballo.

Tabla 3. Producción de pescado de acuicultura en España (toneladas) para 2008 y 2009 desglosada por especies (JACUMAR 2011).

Especie	2008	2009
Dorada	20.744	21.319
Trucha Arco Iris	17.997	14.959
Lubina	8.980	11.548
Rodaballo	7.129	7.628
Atún rojo del Atlántico	2.567	1.382
Corvina	450	1.088
Anguila europea	460	493
Besugo	200	184
Mújoles	119	134
Trucha marina	0	91
Lenguado común	45	47
Lenguado senegales	9	9
Tenca	29	6
Esturión del Adriático	150	5
Salmón del Atlántico	0	1,59
Pez de limón (Seriola)	0,39	0,71
Abadejo	6,41	0,42
Sargo	0,13	0,22
Baila	0	0,02
Total	58.885	58.896

Tabla 4. Valor de la producción de pescado de acuicultura en España (primera venta, en euros) para 2008 y 2009 desglosada por especies (JACUMAR 2011).

Especie	2008	2009
Dorada	69.335.869	73.619.412
Rodaballo	48.577.560	57.285.706
Lubina	49.384.730	55.879.507
Trucha Arco Iris	42.566.317	27.776.030
Atún rojo del Atlántico	36.981.875	14.042.929
Anguila europea	3.696.228	4.047.959
Corvina	1.882.436	3.734.625
Baila	0	1.414.998
Langostino japonés	1.050.283	1.213.184
Mújoles	481.592	513.446
Lenguado común	423.620	463.646
Trucha marina	0	221.022
Lenguado senegales	79.426	120.804
Tenca	270.825	54.000
Pez de limón (Seriola)	3.104	9.954
Salmón del Atlántico	0	3.243
Abadejo	23.999	735
Sargo	410	476
Total	258.514.109	240.401.676

Las Comunidades Autónomas de España con mayor producción de pescado de acuicultura, según JACUMAR, son la Región de Murcia, la Comunidad Valenciana y Andalucía, si bien existe acuicultura de peces en prácticamente todas las regiones.

CCAA	2008
REGIÓN DE MURCIA	9.584
COMUNIDAD VALENCIANA	8.220
ANDALUCÍA	8.145
GALICIA	7.144
CATALUÑA	6.945
CANARIAS	6.913
CASTILLA Y LEÓN	5.867
ARAGÓN	2.012
CASTILLA LA MANCHA	1.175
PRINCIPADO DE ASTURIAS	1.142
LA RIOJA	768
CANTABRIA	621
PAÍS VASCO	193
COMUNIDAD FORAL DE NAVARRA	143
EXTREMADURA	13
BALEARES	1
Total	58.887

Tabla 5. Producción de pescado de acuicultura en España distribuida por Comunidades Autónomas (JACUMAR 2011).

El número de granjas de acuicultura continental dedicadas a la producción de trucha en 2009 ascendió a 124, siendo Galicia con 34 instalaciones la principal. En relación con la acuicultura marina de peces el número de granjas es de 120 mayoritariamente distribuidas por Andalucía.

1.4 Infestaciones parasitarias en peces

Los peces, tanto marinos como continentales, pueden ser infestados por distintas especies de parásitos que tienen importancia desde el punto de vista económico y sanitario. Los parásitos de los peces pueden dar lugar a enfermedades o malformaciones en los peces, que producen alteraciones histopatológicas, inflamaciones del músculo, piel, aletas, despigmentaciones de la piel, malformaciones de sus órganos internos, etc., incluso con la aparición de zonas necróticas que ocasionan su muerte o la disminución de valor económico. Los parásitos pueden alterar el pescado una vez capturado, como el caso de infestación del músculo por mixosporidia, que produce ablandamiento e incluso licuefacción del músculo por la alta tasa de proteasas que liberan durante el cocinado o tratamientos tecnológicos. Asimismo, pueden ocasionar a los consumidores ictiozoonosis -enfermedades transmitidas al ser humano por parásitos u otros agentes patógenos- al ingerir pescados infestados con determinados parásitos, como sucede con algunos helmintos. Las enfermedades humanas causadas por consumo de pescado parasitado por helmintos representan hoy en día uno de los mayores problemas sanitarios, ya que algunos de estos parásitos son altamente patógenos (WHO, 2004). Su importancia creciente se manifiesta en la convocatoria de la UE "KBBE.2012.2.4-02: Food safety and quality issues related to parasites in seafood" de 2011 en la que por primera vez en la UE el objetivo es el estudio específico de los problemas sanitarios que causan los parásitos de pescado y que significan un riesgo para la salud.

La infestación de pescado y los problemas que plantea la ingestión por el consumidor de las larvas de *Anisakis* en estadio 3 (L3) se han estudiado desde hace décadas desde distintas perspectivas. Los principales trabajos se han orientado a identificar el ciclo vital del parásito, las especies de Anisákidos y su distribución

geográfica, la prevalencia, intensidad de las infestaciones y zonas preferentes donde se alojan las larvas en distintas especies de pescado, las zonas geográficas y caladeros de pesca donde existe alta contaminación, los problemas clínicos debidos a la ingestión de las larvas que causan infestación o alergia en el consumidor así como los estudios tecnológicos dirigidos a determinar las condiciones de muerte de las larvas y la influencia de las condiciones tecnológicas y culinarias en el reconocimiento de alérgenos así como los tratamientos dados al pescado para disminuir la tasa de alergenidad en muestras parasitadas (Rodríguez-Mahillo et al 2008, 2010; Solas et al 2008, 2009; Tejada et al, 2006, a,b, 2007; Tejada 2009 a,b,c; Vidaček et al, 2009a, b, c, 2010, 2011).

La infestación del consumidor por las larvas vivas y la alergia a *Anisakis* se asocian con los países y regiones en los que se consumen tradicionalmente pescado crudo o preparaciones culinarias en las que las larvas permanecen vivas (sushi, sashimi, ceviche, boquerones en vinagre, ahumados en frío, etc.). En la actualidad el consumo se ha extendido a otros países debido al incremento del turismo con acceso a formas de consumo típicas de determinadas regiones y a un incremento del comercio internacional, por lo que se necesita conocer el estado actual de las infestaciones de los pescados de distinto origen.

1.4.1. *Anisakis*

Entre los parásitos que afectan al hombre los que actualmente tienen mayor relevancia son los nematodos, fundamentalmente los Anisákidos.

La familia *Anisakidae* (Nematoda: Rhabditida: Ascaridomorpha) comprende al menos 24 géneros, siendo los más conocidos *Phocananea*, *Contraecum* y *Anisakis*. Hay descritas al menos diez especies de *Anisakis* (Mattiucci et al., 2002; Delyamure et al., 1964) aunque *Anisakis simplex* s.l. parece ser la principal responsable de los episodios de parasitosis y alergias alimentarias, y se considera un problema emergente de singular relevancia en los últimos años (Audicana et al., 2002, Audicana y Kennedy, 2008). Se estima que *Phocananea* (= *Pseudoterranova*) y *Contraecum* (= *Thynascaris*) son de menor importancia aunque desde el punto de vista epidemiológico es necesario evaluar su incidencia real en la población, especialmente en lo relativo a sensibilización a alérgenos.

El esquema clasificatorio del género *Anisakis* es el siguiente (de Ley and Blaxter, 2004):

Clase Chromodorea
Orden Rhabditida
Suborden Rhabditina
Infraorden Ascaridomorpha
Superfamilia Ascaridoidea
Familia Anisakidae
Subfamilia Anisakinae
Género *Anisakis*

Los peces son hospedadores intermediarios de las larvas en el estadio 3. Las larvas L3 de *Anisakis* son gusanos de cuerpo cilíndrico que se aprecian a simple vista ya que tienen una longitud de entre 2 y 4 cm. En el hombre no llega a desarrollarse el ciclo biológico completo del parásito ya que las especies de *Anisakis* alcanzan la

madurez sexual en el estómago mamíferos marinos (cetáceos y pinnípedos) que son los hospedadores definitivos o finales y que se infestan por ingestión de hospedadores intermediarios (peces, moluscos o krill) parasitados con la larva L3 (Køie y col., 1995).

1.4.2 Anisakiasis: Infestación y alergia en humanos

El primer caso probado de infestación humana debido a ingestión del parásito vivo por consumo de arenque fue descrito en 1955 como un síndrome abdominal (Van Thiel et al, 1960) aunque en 1876 ya se había descrito en Groenlandia un caso de infestación por un anisákido. Se emplea el término anisakiasis (o anisakiosis) para referirse a la infestación humana producida por la ingestión de larvas vivas de *Anisakis simplex* s.l. mientras que el término anisakidosis se refiere a la producida por diferentes géneros de la familia Anisakidae (*A. simplex* s.l., *Pseudoterranova decipiens* y *Contracaecum osculatum*). Sin embargo, cada vez más autores utilizan ambos términos para definir las patologías causadas por parasitismo y/o alergia que se presentan al ingerir las larvas, e incluso se denomina "anisakiasis gastroalérgica" cuando se producen al tiempo manifestaciones alérgicas y gástricas causadas por larvas vivas durante su migración a la mucosa del tracto digestivo (Daschner et al, 2000, Moneo y Caballero, 2002). En general la infestación en humanos se debe a la ingesta de pescado parasitado que se consume crudo o con tratamientos culinarios suaves que no producen la muerte de las larvas, causando las ictiozoonosis parasitarias en los consumidores. Además en los últimos años se han desarrollado métodos diagnósticos más precisos por lo que han incrementado los casos documentados de estas parasitosis. Es importante tener en cuenta que la infestación se produce por las larvas en estadio 3, que no se multiplican en los humanos.

La alergia a *Anisakis* se describió por primera vez en 1989 (Kasuya et al, 1990) detectándose en España en 1995 (Audicana et al, 1995). Se manifiesta como una respuesta de hipersensibilidad mediada por Inmunoglobulina E (IgE) a distintas proteínas alergénicas del parásito, que se asocian a los productos de secreción/excreción o a proteínas somáticas o de cutícula de las larvas (Moneo et al, 2000). En la actualidad están descritos 12 alérgenos (Internacional Union of Immunological Societies (IUIS) Allergen Nomenclature Sub-Committee, Julio, 2011). Se considera que es necesaria una infestación inicial de la mucosa gástrica o intestinal con la larva L3 viva para que se sintetice IgE y se sensibilice el individuo (Moneo et al, 2000, EFSA 2010) ya que las proteasas e inhibidores de proteasas que excreta/secretora la larva para invadir al huésped pueden actuar como alérgenos en los humanos. Sin embargo una vez que el individuo está sensibilizado, se pueden dar casos de alergia al consumir las proteínas alergénicas del parásito, por lo que aunque se produzca la muerte de la larva por aplicación de distintos tratamientos que evitarían la infestación del consumidor, debido a su gran resistencia térmica y a condiciones ácidas, no se evita la alergia en la población previamente sensibilizada a determinados alérgenos de *Anisakis* (Moneo y Caballero, 2002; Moneo et al., 2005; Rodríguez Mahillo, 2006; Audicana y Kennedy, 2008). Existe una gran variación individual de la respuesta a los alérgenos pudiendo algunos pacientes ser alérgicos a distintos alérgenos.

1.4.3 Normativa española y europea

Para producir la muerte de las larvas y evitar la infestación del consumidor al ingerir pescados parasitados con las larvas de *Anisakis* que se consumen crudos o con tratamientos que no producen la muerte de las larvas, la Unión Europea recomienda someter a una temperatura igual o inferior a -20°C en el centro térmico del pescado durante un tiempo igual o superior a 24 horas (Reglamentos CE nº 853/2004 y CE nº 854/2004). En España estas recomendaciones son obligatorias para los establecimientos que sirven comida a los consumidores finales o a colectividades (Real Decreto 1420/2006). Las condiciones difieren de las dadas por la *US Food and Drug Administration* de EE UU (U.S. FDA, 2011) que especifican que para producir la muerte de los parásitos los pescados o productos de la pesca tienen que congelarse y mantenerse a una temperatura igual o inferior a -20°C durante 7 días; congelarse a una temperatura de -35°C o inferior durante 15 h, o congelar a una temperatura de -35°C o inferior hasta que se congele y almacenar a una temperatura de -20°C o inferior durante 24 horas. Estas recomendaciones no tienen en cuenta la temperatura alcanzada en el centro térmico por lo que pueden ser insuficientes o excesivas en función de las características fisicoquímicas del pescado o piezas a congelar y representar un perjuicio económico para la industria suministradora.

Para producir la muerte de las larvas también se recomienda someter el pescado a tratamientos térmicos en donde se alcancen en el centro térmico del pescado unas condiciones de tiempo-temperatura de $\geq 60^{\circ}\text{C}$ durante 10 minutos. Sin embargo, hay que tener en cuenta que en algunos de los tratamientos culinarios que se dan al pescado no se alcanzan esas condiciones ya que la temperatura en la superficie puede ser más alta que la del centro térmico. Cuando el centro térmico alcanza las condiciones recomendadas puede producirse un calentamiento excesivo que dé lugar a modificaciones sensoriales, fundamentalmente de textura, no deseadas.

Estos tratamientos producen la muerte de las larvas por lo que se evita la infestación del consumidor, si bien se han encontrado algunas excepciones (Vidaček *et al*, 2010). Sin embargo no se refieren a los alérgenos de *Anisakis*, por lo que en los individuos sensibilizados se pueden producir episodios de alergia, incluso cuando consumen pescado congelado o cocinado en condiciones óptimas, ya que aunque las larvas estén muertas, algunas de sus proteínas alergénicas son termo-resistentes y mantienen su capacidad antigénica.

1.4.4 Prevalencia e infestación de pescado por *Anisakis*

Aunque hace décadas prácticamente solo se consideraban como especies de pescado parasitadas por Anisákidos el bacalao (*Gadus morhua*) parasitado por *Pseudoterranova decipiens* (gusano del bacalao) y el arenque (*Clupea arengus*) parasitado por *Anisakis* sp (gusano del arenque), hoy en día se sabe que la mayoría de las especies de pescado marinas de consumo que llegan a los mercados pueden estar parasitadas por Anisákidos, fundamentalmente por *Anisakis* sp. Se considera que actualmente la mayoría de las especies de consumo de captura extractiva están parasitadas, con una prevalencia y tasa de infestación que depende de la especie y el caladero. Existen informes publicados en los que se ha comprobado que más de 160 especies de peces y cefalópodos están infestadas con larvas de Anisákidos sobre todo por *A. simplex*.

La prevalencia, abundancia e intensidad de infestación del pescado por larvas L3 de *Anisakis* se ha asociado directamente con la edad y tamaño de los individuos

(Abaunza et al, 1995; Carvajal et al 1979, McClelland, et al, 1990; Mladineo, 2003, Valero et al, 2006; Incorvaia y Hernandez, 2006), aunque en bacaladilla capturada en el Atlántico Noroeste se ha descrito un comportamiento inverso (Levsen y Midthun, 2007). La abundancia de mamíferos marinos en los caladeros incrementa la posibilidad de infestación (Young, 1972). También se ha detectado un incremento de parasitación cuando se realizan estudios sistemáticos de determinados caladeros durante periodos largos (Urawa y Fujisaki, 2006).

1.4.5 Localización preferente en cefalópodos y peces marinos

En la mayoría de las especies las localizaciones más frecuentes de las larvas en el pez vivo son en el tracto digestivo, cavidad abdominal y vísceras tales como hígado y gónadas, aunque también puede estar parasitado el músculo. Se presentan enrolladas en forma de espiral plano bajo el tejido conectivo (Figura 3). La

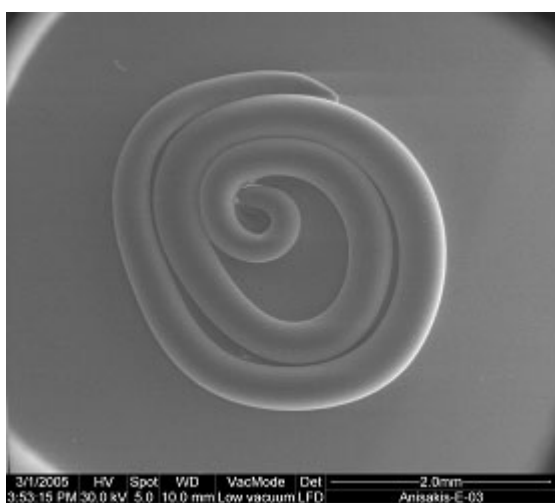


Figura 3. Larva L3 de *Anisakis simplex*

localización preferente de las larvas en los peces y cefalópodos se cree que está ligada a los hábitos alimenticios del hospedador. En los peces que se alimentan principalmente de eufáusidos tales como la bacaladilla (*Micromesistius poutassou*), el arenque y la caballa (*Scomber scombrus*), la mayoría se encuentra en la cavidad abdominal y vísceras, mientras que en peces piscívoros como el abadejo (*Pollachius sp*), bacalao (*Gadus morhua*), merluza (*Merluccius sp*) y merlán (*Merlangius merlangus*) suelen estar también presentes en la musculatura hipoaxial que rodea la cavidad abdominal (Fig. 4).

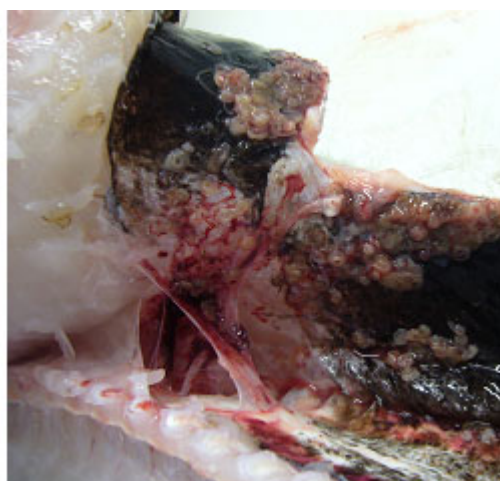


Figura 4. Infestación de musculatura hipoaxial por larvas de *A. simplex*

En estudios efectuados en especies capturadas en el Atlántico norte, entre el 90 y el 98% de las larvas se localizaban en la cavidad abdominal y vísceras y el resto en la musculatura, sobre todo en la musculatura ventral (Karl, 2008). Sin embargo, en algunas especies de salmón del Pacífico se detecta más abundancia en *Anisakis*

simplex sl. en la musculatura (87%), con localización preferente en la musculatura abdominal (Deardorff y Kent, 1989, Karl, comunicación personal).

En peces capturados en el Adriático, se ha estimado que la localización preferente en las vísceras es el hígado en merluza, el intestino en caballa (*Scomber scombrus* y *S. japonicus*) y anchoa (*Engraulis encrasicolus*) y las gónadas en jurel (*Trachurus trachurus*) (Mladineo, 2003). En bacaladilla la víscera con mayor tasa de infestación es el hígado, disminuyendo el porcentaje de larvas con el tamaño del pez. En caballa y arenque se ha estimado que la zona mas infestada es la zona pilórica, en donde se encuentran entre el 57% y el 81% de todas las larvas (Levsen y Midthun, 2007).

1.4.6 Estudios en pescados de acuicultura

Se considera que la ingesta de pescado de acuicultura es más segura debido a que se cría en un entorno en el que entre otras cosas, la alimentación, principal vía de parasitación en los peces, está controlada. Sin embargo, se han encontrado en algunos casos aislados Anisakidos, tanto en vísceras como en músculo, en las especies cultivadas. Las vías de transmisión pueden ser por la presencia en el medio marino de hospedadores intermediarios (crustáceos anfípodos) o a través de la alimentación de los peces cultivados con productos parasitados (Rückert y col, 2008). Se considera que en los peces cultivados con pienso seco apenas existe riesgo de parasitación con *Anisakis* debido a las condiciones controladas de cultivo. La mayoría de los estudios que se han publicado referentes a la presencia de nematodos en pescado cultivado se han hecho en salmónidos alimentados con pienso (Deardorff and Kent, 1989; Angot and Brasseur, 1993; Inoue *et al.*, 2000; Lunestad, 2003; Marty, 2008; Skov *et al.*, 2009; Wootten *et al.*, 2009). En dorada (*Sparus aurata*) y lubina (*Dicentrarchus labrax*) cultivadas en la región de Murcia (España) tampoco se han detectado larvas de *Anisakis* (Peñalver *et al.*, 2010).

Sin embargo, existen riesgos potenciales de contaminación debido a la presencia de mamíferos marinos y aves ictiófagas, a través de invertebrados marinos infestados que puedan penetrar en las jaulas o debido a la alimentación con pescado o subproductos de pescado que contengan larvas vivas. No existen en la actualidad estudios que determinen si existe riesgo de alergia transmitida a través de los piensos.

Debido a que en la actualidad la seguridad alimentaria es una de las principales demandas de los consumidores, es necesario conocer el panorama actual de la parasitación por *Anisakis* de las especies de pescado cultivado de más importancia que se presentan al consumidor en España.

2. Cálculo muestral

2.1 Tamaño de la muestra

El protocolo de muestreo de este estudio fue diseñado por el Departamento de Estadística (DE) de la Secretaría General Adjunta de Informática (SGAI) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), de acuerdo con los datos facilitados por APROMAR relativos a la población de las 4 especies seleccionadas [dorada (*Sparus aurata*), lubina (*Dicentrarchus labrax*), rodaballo (*Psetta maxima*) y corvina (*Argyrosomus regius*)], el número de granjas y la ubicación de las zonas de cultivo tomando los datos del año 2008. Se realizó un muestreo aleatorio estratificado polietápico con afijación proporcional a la distribución de individuos por especie. En la primera etapa se efectuó un muestreo de las granjas en función de su localización geográfica, especies de cultivo y porcentaje de la especie en relación con la producción en acuicultura. En una segunda etapa se realizó el muestreo de individuos en las granjas.

El tamaño de la muestra se calculó para un nivel de confianza del 95% y un error del $\pm 0,03$ (alrededor del 3%) por lo que la toma de muestras se previó en 45 granjas con un número total de peces a estudiar de 1.080 (24 individuos por especie y granja).

Todos los pescados muestreados fueron alimentados en las granjas durante todo su proceso productivo con piensos extrusionados, que es la norma en las instalaciones de acuicultura marina en España.

2.2 Calendario de muestreo

El calendario de los muestreos se estableció de acuerdo con la ubicación de las granjas, la especie a estudiar y el número de peces seleccionados en el protocolo de muestreo realizado según los datos de producción de cada especie y ubicación de las granjas facilitados por APROMAR. El muestreo se llevó a cabo en dos periodos diferenciados: primavera y otoño. En algunos casos el calendario se hubo de modificar debido a que durante la realización del estudio se produjeron cambios imprevistos en determinadas granjas que impidieron seguir el protocolo inicial.

2.3 Estudio estadístico para el muestreo

Este estudio fue realizado por la Secretaría General Adjunta de Informática (SGAI) del Departamento de Estadística del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

Muestreo de *Anisakis* para estudio de prevalencia

Pasos para la selección de muestras:

- Paso 1: Definir la población de la investigación
- Paso 2: Procedimiento muestral
- Paso 3: Determinar el tamaño de la muestra
- Paso 4: Seleccionar una muestra entre la población

Paso 1. POBLACIÓN

La población son los peces de cuatro especies: dorada, lubina, rodaballo y corvina criados en 136 granjas de cultivos marinos. Es una llamada población numerosa, que se distribuye según las toneladas y unidades producidas en 2008 (Tabla 6):

	Producción 2008 (Kg)	Unidades producidas	nº granjas
Dorada	23.930.000	59.825.000	70
Lubina	9.840.000	24.600.000	51
Rodaballo	7.870.000	5.246.667	10
Corvina	1.300.000	650	5

Tabla 6. Distribución de la producción en España de las especies seleccionadas, las unidades producidas y el número de granjas.

La dorada supone el 67% de la producción, la lubina el 28%, el rodaballo el 6% y la corvina apenas un 0,001% de la producción.

Paso 2. PROCEDIMIENTO MUESTRAL

Muestreo aleatorio estratificado polietápico con afijación proporcional a la distribución de individuos por especie.

- Primera etapa: muestreo de las granjas
- Segunda etapa: muestreo de individuos dentro de las granjas.

Paso 3. CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

Muestreo en la primera etapa. Desconociéndose la prevalencia teórica entre las instalaciones (granjas) se asumió la situación más desfavorable en términos de muestreo $p=q=0,5$, esto es una prevalencia del 50%. Para un nivel de confianza del 95% y un error de $\pm 0,12$ (12%) bastaría con muestrear 45 granjas.

Muestreo en la segunda etapa. Nuevamente, desconociéndose la prevalencia teórica dentro de las instalaciones (granjas) se asumió la situación más desfavorable en términos de muestreo $p=q=0,5$, esto es una prevalencia del 50% en todas ellas.

El muestreo se calculó para un nivel de confianza del 95% y un error de $\pm 0,03$ (alrededor del 3%) sumando un 10% de reposición ante posibles pérdidas de muestras.

Paso 4.- SELECCIÓN

Las granjas se seleccionaron de forma aleatoria entre las que cumplían los siguientes criterios:

- Localización geográfica asociada con la especie, ya que no en todas se encuentran las mismas especies.
- Producción nacional de cada una de las especies.
- Especie producida en cada granja.

Se escogió un mínimo de 3 granjas por localización (Valencia, Murcia, Andalucía, Canarias, Galicia y Cataluña); las 30 restantes se hicieron de forma proporcional al número de granjas por localización.

Se determinó un número mínimo de 21 peces por muestreo. Aunque para reponer posibles pérdidas se tomaron 24 peces por granja.

3. Muestreo

3.1 Protocolo de muestreo

Todo el procedimiento hasta el momento del procesado, fue diseñado para que tuviese la máxima similitud posible con el proceso del despesque comercial y puesta en el mercado para llegar al consumidor.



El personal de la ADS ACUIVAL, tras contactar con los responsables de la granja y coordinar la fecha de muestreo, se personaba en la granja. Allí, se cogían 24 ejemplares de la especie seleccionada. Los animales se tomaban de la cuba de pesca, una vez sacrificados, de manera totalmente aleatoria.

Figura 5: Cuba de pesca de rodaballo, de donde se muestreaban aleatoriamente los individuos

Se introducían los 24 individuos en bolsas de plástico y estas se depositaban en neveras con hielo suficiente para el transporte. Estas mismas neveras fueron utilizadas para su transporte y conservación hasta el procesado. Durante esta fase, se controló que hubiera una cantidad suficiente de hielo para la buena conservación del pescado.

El transporte se realizó, en la gran mayoría de los casos, por carretera. La excepción han sido las muestras provenientes de Canarias, que se transportaron por vía aérea.



Figura 6: Momento de un muestreo aleatorio de lubinas de una cuba de pesca

Se realizó una encuesta sobre los datos de los peces muestreados a una persona responsable de la granja, en la que se recabaron los datos del lote, así como datos relevantes sobre una posible presencia de *Anisakis* (plantilla en Anexo II). Todos los

pescados muestreados habían sido alimentados durante todo su proceso productivo con piensos extrusionados.

Al no identificarse individualmente el pescado en la granja, los animales de granjas diferentes, se mantuvieron en neveras independientes para evitar posibles confusiones. Estas neveras se identificaron de forma inequívoca para mantener una adecuada trazabilidad.



Figura 7: Neveras para el transporte de las muestras

El pescado se mantuvo en las neveras con hielo hasta su procesado, entre las 48 y las 72 horas post-captura. Siguiendo indicaciones del Instituto del Frío (actualmente ICTAN), se observaba, que el pescado estuviera en post-rigor.

3.2 Datos obtenidos de los peces

De todos los individuos, se registró, previamente a su procesado, el peso y la longitud furcal.



Figura 8: Medida del peso de un rodaballo



Figura 9: Medida de la longitud de un rodaballo

Para determinar la longitud de los individuos, se registró la longitud furcal, que es la resultante de la medición desde la parte anterior del rostro, hasta la furca de la aleta caudal.

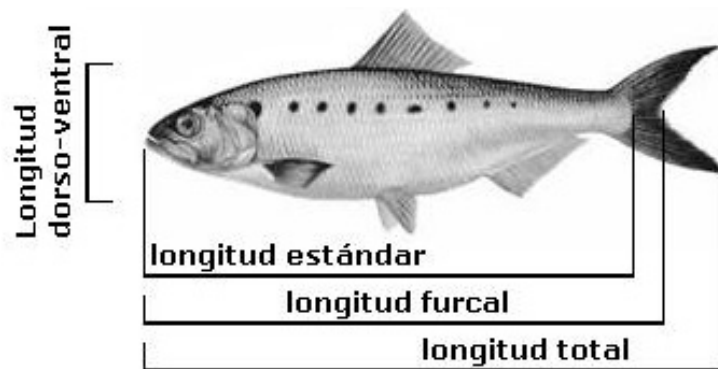
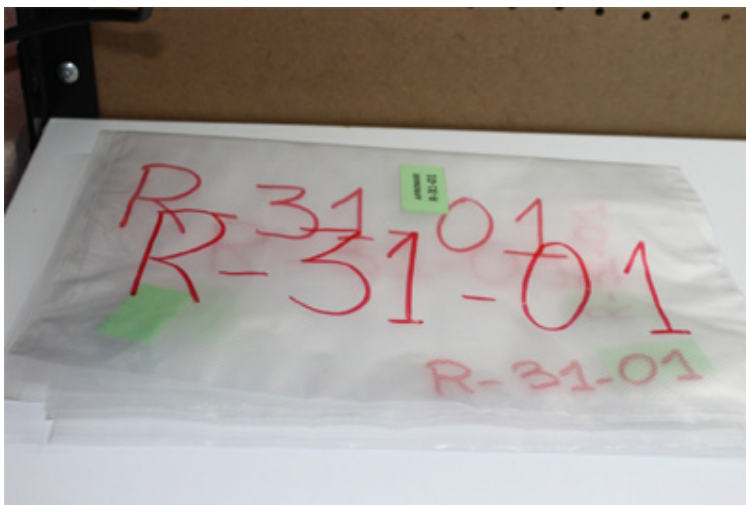


Figura 10: Longitudes del pez

El pescado se identificó con un código individual, en el que quedaba reflejado la especie, la granja y el número individual. Se introdujeron etiquetas plastificadas con este código en cada una de las bolsas de cada individuo.

Se pesaron y midieron (longitud furcal) todos los peces y se anotaron los datos en la Hoja de Datos (plantilla en Anexo III).

El procesado consistió en lo siguiente: eviscerado, fileteado y envasado al vacío. Durante el eviscerado y fileteado, se prestó especial atención a la posible presencia de parásitos, especialmente del género *Anisakis*. Las muestras no se lavaron, a fin de evitar la eliminación de parásitos. Entre el procesado de dos individuos, se realizaba una limpieza de la superficie de trabajo y los utensilios, a fin de evitar contaminaciones cruzadas.



g
Figura 11: Bolsas con identificación individual

Se introdujeron las diferentes partes obtenidas en el procesado en cuatro bolsas independientes, con una etiqueta identificativa individual y se envasaban al vacío:

- Vísceras
- Filetes dorsales
- Filetes ventrales (*Belly-flaps*)
- Cabeza y espinas



Figura 12: Fileteado de un rodaballo

A su vez, estas bolsas, identificadas individualmente, se introdujeron en una bolsa de cierre zip, para manipular las muestras de cada individuo de manera conjunta hasta su envío al Instituto del Frío.



Figura 13: Envasado al vacío de unas vísceras

Inmediatamente tras el envasado, se introdujeron las bolsas en el congelador. En esta fase, se procuró, en la medida de lo posible, que los filetes ventrales y dorsales quedaran planos y separados, para facilitar el trabajo posterior en el IF-CSIC.

Las muestras se mantuvieron en el congelador, a una temperatura aproximada de -23 °C hasta su envío al Instituto del Frío.

Con el fin de evitar la descongelación de las muestras durante el transporte, se optó por que el propio personal de la ADS ACUIVAL transportara éstas por carretera hasta el Instituto del Frío, en neveras con hielo conservado a -23°C en cantidad suficiente para mantener la temperatura. De esta forma, las muestras llegaban de Valencia a Madrid en aproximadamente cuatro horas, un tiempo mucho menor, que si se hubieran enviado por mensajería convencional.

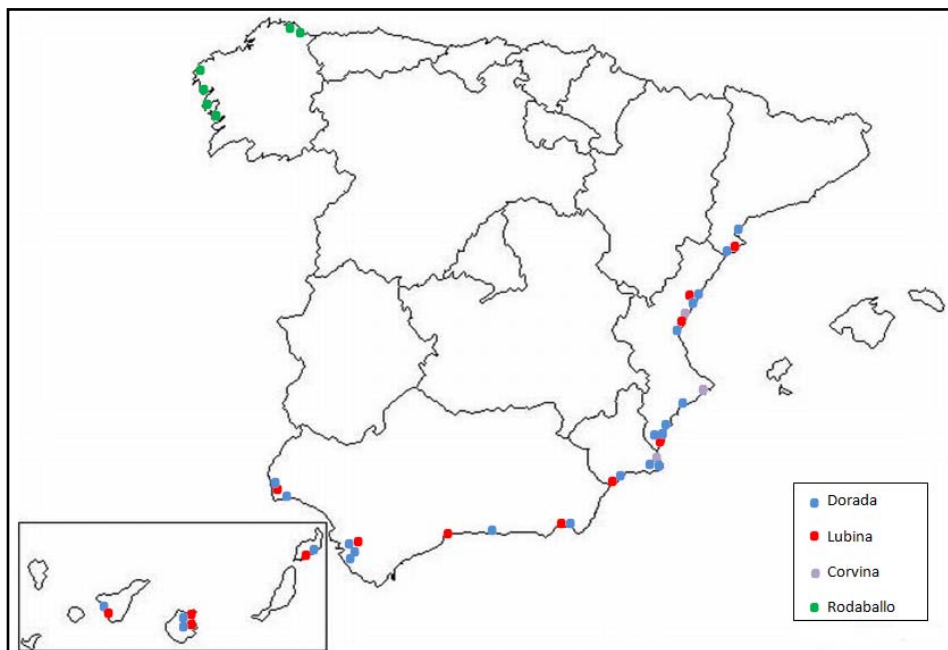


Figura 14: Aspecto de unas muestras ya procesadas, preparadas para su congelación

3.3 Localización de las granjas muestreadas

En el siguiente mapa, se observa la localización de las granjas muestreadas, identificadas según la especie.

Figura 15:
Distribución espacial de las granjas muestreadas



La tabla 7 refleja los datos finales del muestreo, con el total de granjas, el número de peces, y su distribución por especie y Comunidad Autónoma.

Tabla 7: Distribución de las muestras por especie y origen

Especie	Nº granjas muestreadas	Nº Peces muestreados	Murcia	Cataluña	Com. Valenc.	Canarias	Andalucía	Galicia
Dorada	23	551	3	2	7	4	7	-
Lubina	13	310	1	1	3	4	4	-
Rodaballo	6	144	-	-	-	-	-	6
Corvina	3	72	1	-	2	-	-	-
TOTAL	45	1.077	5	3	12	8	11	6

Tabla 8: Distribución de las muestras por especie y sistema de producción (D: Dorada; L: Lubina; R: Rodaballo; C: Corvina)

Tipo producción	Nº granjas muestreadas	Murcia				Cataluña				Com. Valenc.				Canarias				Andalucía				Galicia			
		D	L	R	C	D	L	R	C	D	L	R	C	D	L	R	C	D	L	R	C	D	L	R	C
Viveros en mar abierto	32	3	1	-	1	2	1	-	-	7	3	-	2	4	4	-	-	3	1	-	-	-	-	-	-
Esteros	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	3	-	-	-	-	-	-
Tanques en tierra	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	-
TOTAL	45	3	1	-	1	2	1	-	-	7	3	-	2	4	4	-	-	7	4	-	-	-	-	6	-

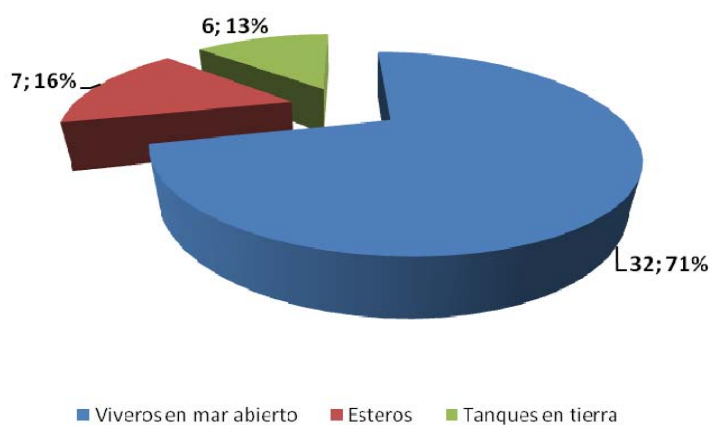


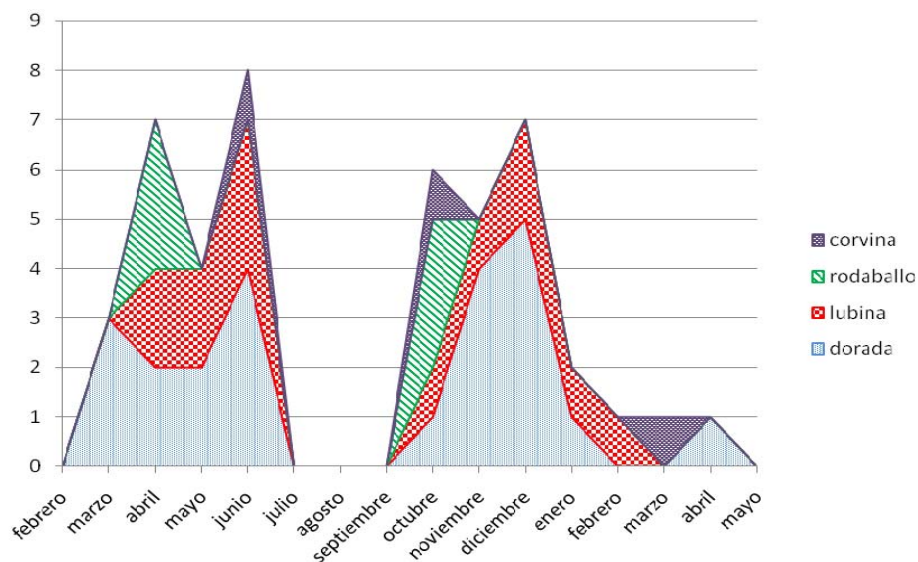
Figura 16: Distribución de las granjas muestreadas por sistema de producción

Durante la realización del muestreo se hicieron pequeñas modificaciones sobre la planificación inicial, autorizadas por el Departamento de Estadística del CSIC.

3.4 Temporalidad del muestreo

El muestreo se llevó a cabo en dos periodos diferenciados: primavera y otoño. Se inició en marzo de 2010 y finalizó en abril de 2011. Del muestreo de primavera, quedaron pendientes algunas granjas en 2010 por causas ajenas al proyecto, que fueron muestreadas en la primavera de 2011.

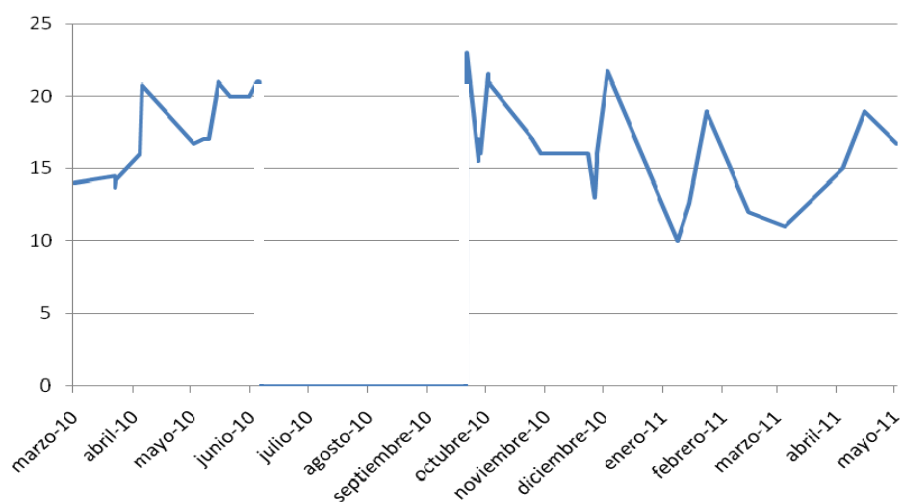
Figura 17:
Distribución de los muestreos a lo largo de los años 2010 y 2011.



3.5 Temperatura del agua de cultivo

Durante el muestreo, se anotó la temperatura del agua de cultivo. Las temperaturas obtenidas se encontraban entre los 10°C y los 23°C, encontrando una elevada variabilidad de la misma.

Figura 18:
Temperatura del agua de cultivo de las granjas muestreadas



3.6 Distribución de pesos y longitudes

La talla y el peso de los peces correspondían a tamaños comerciales. En cualquier caso, la variabilidad fue la normal en la comercialización de estas especies. Se observó una amplia distribución de pesos y tallas en todas las especies, lo que asegura una buena representatividad del muestreo.

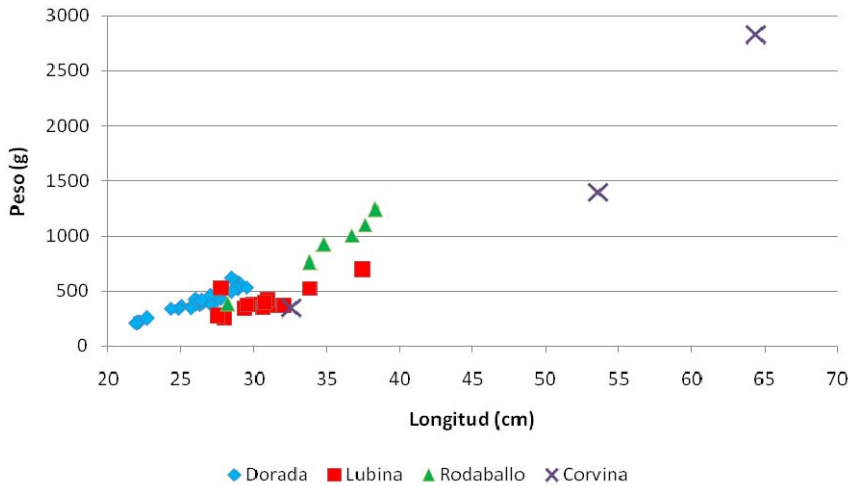


Figura 19: Distribución de las granjas por peso y longitud media.

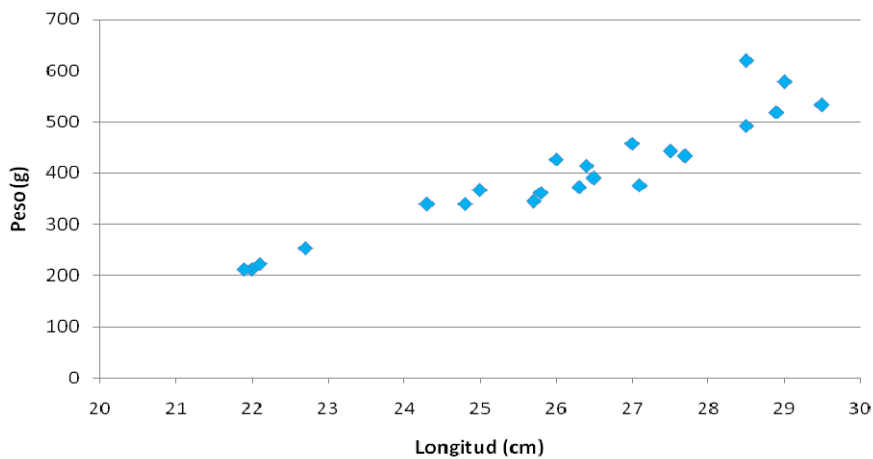


Figura 20: Distribución de pesos y longitudes medias de las granjas de dorada muestreadas

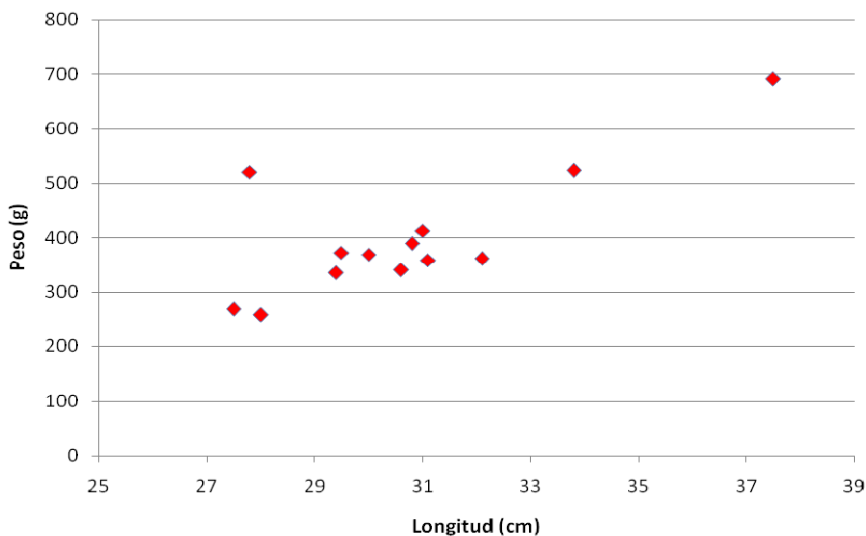


Figura 21: Distribución de pesos y longitudes medias de las granjas de lubina muestreadas

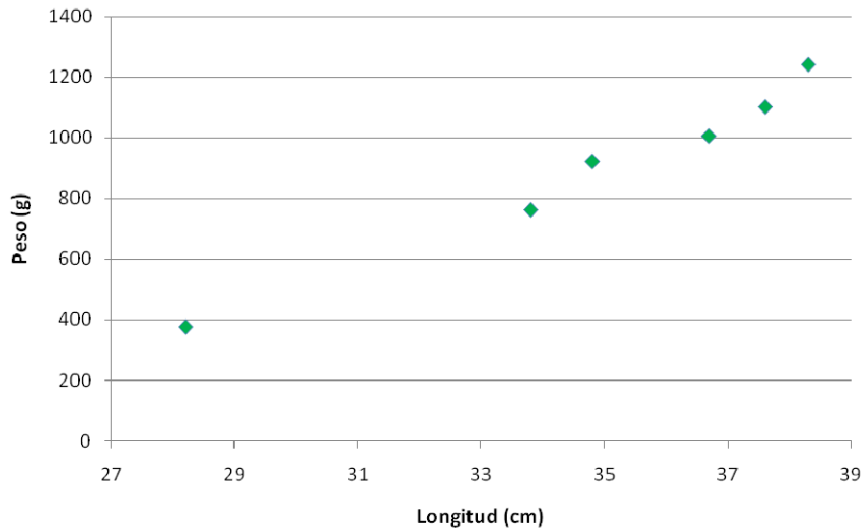


Figura 22:
Distribución de pesos
y longitudes medias
de las granjas de
rodaballo
muestreadas

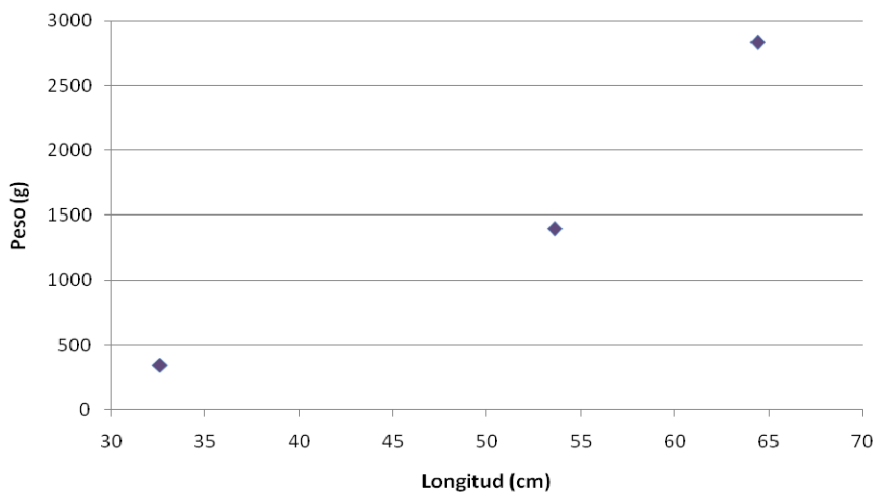


Figura 23:
Distribución de pesos
y longitudes medias
de las granjas de
corvina muestreadas

3.7 Distribución de edad

Entre los datos registrados, se anotó la fecha de siembra de los alevines. Con este dato se obtuvo lo que se ha llamado "edad", aunque se corresponde con el tiempo del periodo de engorde, y no con tiempo real de vida de los peces pues habría que añadirle el tiempo de cría larvaria y preengorde.

En todas las especies, se observa una amplia distribución de las edades de los peces muestreados, que asegura una buena representatividad del muestreo.

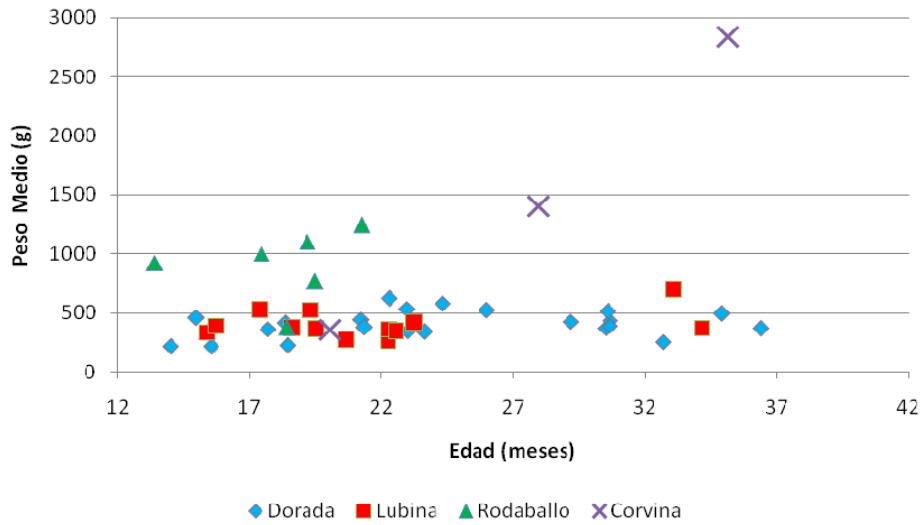


Figura 24:
Distribución de las granjas por peso y edad media de los peces

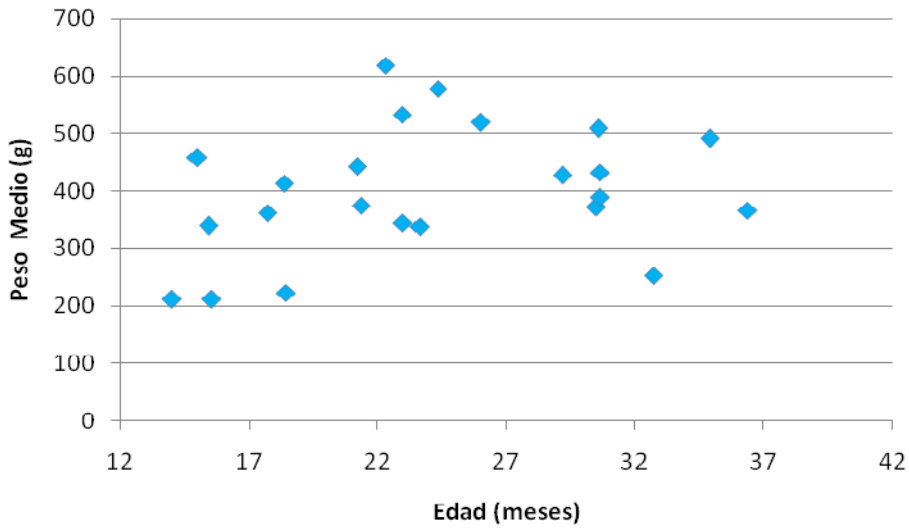


Figura 25:
Distribución de las granjas por peso y edad media de las doradas muestreadas

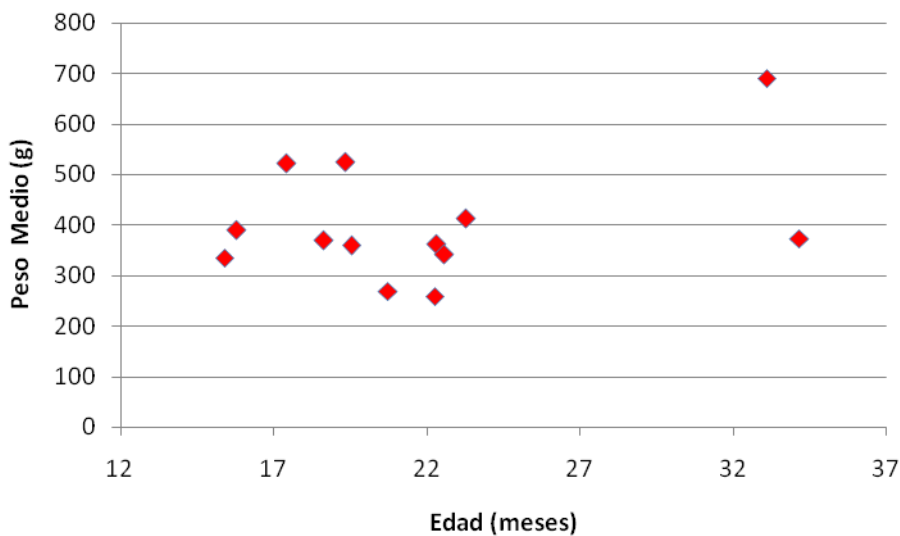
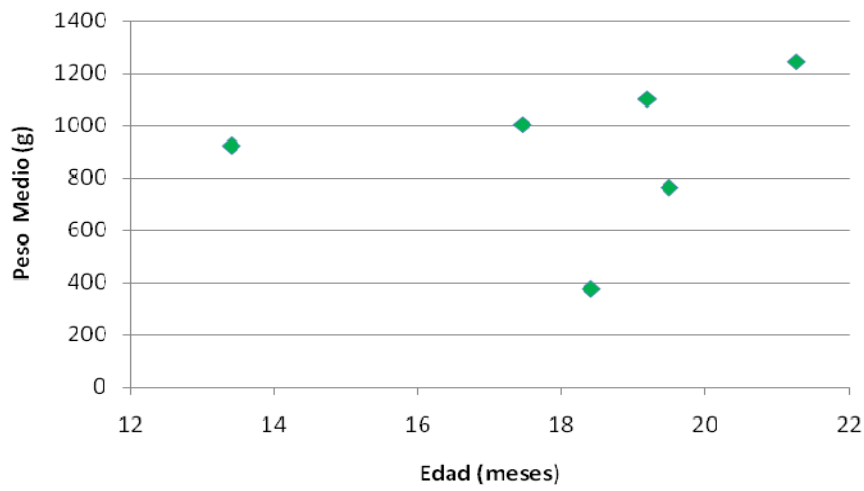
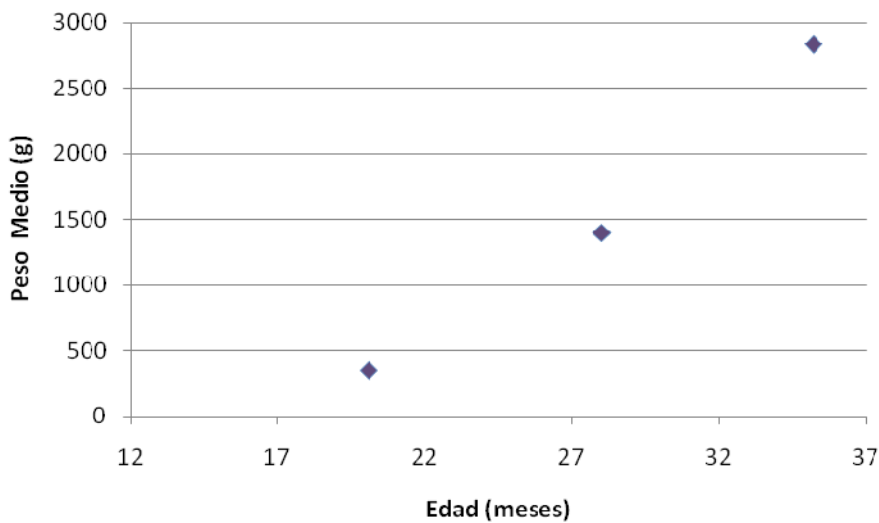


Figura 26:
Distribución de las granjas por peso y edad media de las lubinas muestreadas



*Figura 27:
Distribución de las granjas por peso y edad media de los rodaballos muestreados*



*Figura 28:
Distribución de las granjas por peso y edad media de las corvinas muestreadas*

4. Estudios de prevalencia e intensidad de parasitación por larvas L3 de *Anisakis*

4.1 Metodología empleada

El estudio realizado en el IF-ICTAN se efectuó en cada individuo procesado según se detalla a continuación en el apartado 4.2., siguiendo el protocolo de muestreo establecido en la memoria del proyecto. Se estudiaron individualmente las vísceras, musculatura ventral, musculatura dorsal y cabeza + espinas. Se determinó la prevalencia y grado de infestación por larvas L3 de *Anisakis* en cada individuo de las 4 especies seleccionadas.

Se siguió el siguiente protocolo de estudio:

- Observación visual con luz natural (V)
- Observación por luz ultravioleta (366 nm) (UV) de las muestras congeladas-descongeladas.
 - Cada muestra se observó individualmente en una cámara con luz ultravioleta, manteniendo todos los requisitos necesarios para proteger al personal que realizaba la observación.
- Digestión con pepsina ácida (Dig) en las siguientes condiciones:
 - 10mg de pepsina/ml [1:10,000 NF (U.S. National Formulary) ⇔2000 FIP (International Pharmaceutical Federation)-U/g]); 0,3M HCl, pH≈1
 - Relación g muestra:ml solución de digestión: 1:2 (w:v)
 - La digestión se realizó en recipientes cerrados incubados en un baño de agua a 37°C (±1°C) con agitación continua hasta digestión de la muestra (músculo o vísceras). Una vez digeridas se separó el líquido por filtración y se evaluó la presencia de larvas de *Anisakis* en la parte retenida por el filtro.

Las condiciones son las recomendadas por el CODEX (2004) y se considera que la cutícula de las larvas es resistente a estas condiciones de digestión por lo que las larvas quedan liberadas.

4.2 Estudios realizados en cada individuo

A la llegada al Instituto del Frío se tomó la temperatura de cada uno de los lotes y se conservaron las muestras en cámaras de congelación a -20°C hasta su estudio. Las muestras se conservaron identificadas y divididas según se muestra en la Fig. 29:

- Vísceras (V)
- Musculatura ventral (belly flaps) (MV): Izquierda (I) y derecha (D)
- Musculatura dorsal: I y D
- Cabeza y espinas

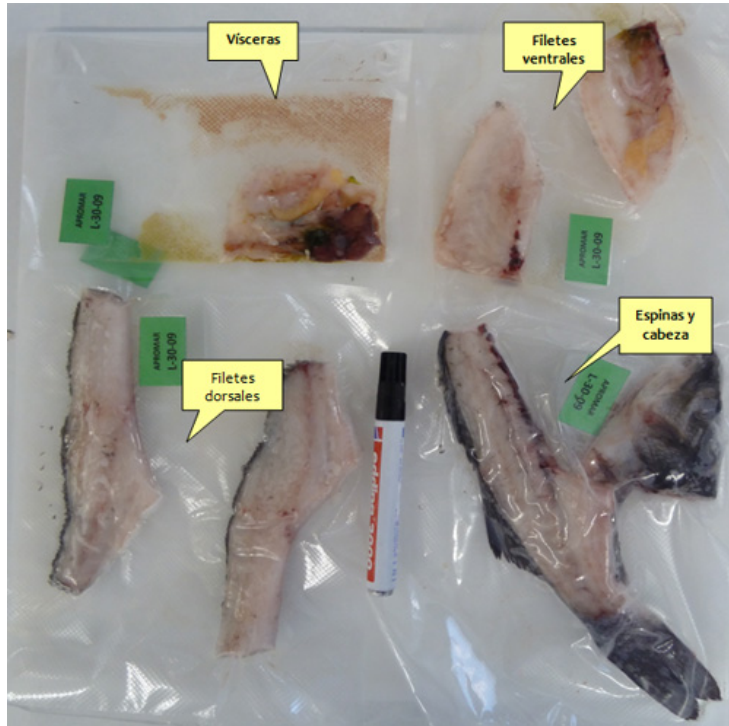


Figura 29. Contenido de una bolsa individual (Lubina) (ACUIVAL-IF)

Durante todo el estudio se conservaron los códigos individuales de identificación de cada una de las partes pertenecientes a cada individuo y granja para mantener la trazabilidad de las muestras.

El protocolo de estudio seguido fue el siguiente:

- Vísceras: Se estudiaron las vísceras de todos los peces (24 por especie y granja) ya que como se ha indicado en el apartado 1.4.5., el mayor porcentaje de larvas de *Anisakis* se encuentra en las vísceras tanto en prevalencia como en intensidad de infestación (entre el 80 y el 90% de las larvas en la mayoría de las especies) (Karl, 2008). Se estudiaron mediante inspección visual (V), UV y Dig. las vísceras de todos los individuos.
- Musculatura ventral: Se estudiaron los filetes ventrales izquierdos (I) y derechos (D) por V y UV todos los individuos de cada granja (24). La digestión se realizó en los filetes I y D en un número \geq a 5 filetes I y D elegidos al azar. El estudio por V y UV de todos los filetes ventrales izquierdos y derechos se efectuó teniendo en cuenta que en todos los casos en los que las larvas se alojan en el músculo, el mayor porcentaje se encuentra en la musculatura hipoaxial, incluso en especies como el salmón del Pacífico en los que el mayor porcentaje de larvas se encuentra en el músculo (Deardorff y Kent, 1989; Karl, 2008 y comunicación personal). La digestión de los músculos ventrales se hizo sobre \geq 5 filetes con localización I y D
- Musculatura dorsal: Se estudiaron 10 filetes por V, UV. La digestión se hizo preferentemente en 10 filetes I elegidos al azar. Se eligieron los filetes izquierdos debido a la mayor posibilidad de infestación por la posición de las vísceras según algunos autores. En determinados casos se hizo una digestión adicional en filetes dorsales derechos elegidos al azar.
- Cabezas y espinas: Se realizó en todos los individuos un estudio por V y UV.

5. Resultados y conclusiones

5.1 Resultados y discusión

Los resultados de los análisis se muestran en la tabla del Anexo I. Para facilitar su comprensión se han resaltado en color ocre las muestras estudiadas en otoño, y aparecen en blanco las de primavera. En verde aparecen las muestras de primavera que se han estudiado en 2011.

Por cuestiones ajenas al estudio los muestreos de primavera se realizaron en los años 2010 (en la mayoría de las granjas) y 2011.

En ninguno de los pescados examinados se localizó larva de *Anisakis* alguna.

A pesar de esta ausencia de larvas de *Anisakis* en los resultados de este estudio, el conocimiento del ciclo de vida de este parásito recomienda revisar la gestión de las granjas de acuicultura marina para reducir al mínimo el riesgo de la posibilidad de contaminación a los peces de crianza.

- 1) Los peces de acuicultura deben ser criados en cautividad durante toda su vida: desde huevos, pasando por sus estados larvarios, hasta el momento de su cosecha y sacrificio. Con ello el control de la alimentación de los peces será máximo a lo largo de toda su vida, y la posibilidad de parasitación menor.
- 2) Los peces deben ser alimentados con dietas que no contengan el parásito vivo. Los piensos secos utilizados en España para la crianza de los peces, mayoritariamente extrusionados, no los pueden contener debido a su proceso de elaboración. En los casos en los que la alimentación incluya pescado fresco o sus derivados (como ocurre en ocasiones con los ejemplares reproductores mantenidos en las hatcheries), debe someterse a un proceso que asegure la muerte de las larvas, como por ejemplo su congelación.
- 3) Debe evitarse, en la medida de lo posible, la presencia de mamíferos marinos en el entorno de las granjas de acuicultura, por ejemplo delfines, ya que pueden ser transmisores de *Anisakis* a través de sus heces.
- 4) Debe minimizarse la presencia de aves en el entorno de las granjas debido a que pueden ser también transmisores de larvas de *Anisakis*.
- 5) Las granjas de acuicultura deben incluir en sus programas sanitarios protocolos de control para comprobar la ausencia de *Anisakis* a lo largo del proceso de cultivo.

5.2 Conclusiones

Los resultados obtenidos indican la ausencia de larvas de *Anisakis* en los pescados de acuicultura de las especies dorada, lubina, rodaballo y corvina, criados en todas las condiciones estudiadas, independientemente de la localización geográfica o de la estación del año. Por este motivo, el consumo de estos pescados no representa un riesgo significativo de infestación del consumidor por larvas de *Anisakis*, lo que disminuye a efectos prácticos el riesgo de sensibilización al parásito.

Esta ausencia de *Anisakis* no supone que no exista la posibilidad de presencia de sus larvas en algún caso excepcional, ya que no se puede excluir completamente la posibilidad de contaminaciones durante la producción, aunque no se hayan detectado en el presente estudio.

La reducción hasta el mínimo de esta posibilidad de contaminación recomienda la implementación de directrices de manejo de las granjas de acuicultura, a modo de consejos de buenas prácticas.

Este estudio se ha dirigido a detectar larvas de *Anisakis* en los pescados y, en su caso, determinar su localización preferente en las distintas especies, pero sin realizarse estudios de antigenicidad ni de alergenidad. La ausencia de larvas constatada no excluye la posibilidad de que el músculo de los pescados de acuicultura contenga en alguna circunstancia alérgenos provenientes de piensos en los que se haya utilizado para su elaboración harinas de pescado parasitado con larvas de *Anisakis*. Este riesgo es compartido con otros animales de ganadería terrestre que hubieran consumido harina de pescado en sus piensos. Esta circunstancia, que recomienda un ulterior trabajo de investigación, podría llegar a representar un problema de episodios de alergia en consumidores sensibilizados previamente a *Anisakis*.

6. Anexos

- I Tabla resumen de resultados.
- II Plantilla de encuesta en granja.
- III Plantilla de datos en muestreo y procesado.
- IV Plantilla de recepción de muestras en laboratorio CSIC.
- V Plantilla de datos generales de detección de *Anisakis* en CSIC.
- VI Plantilla de datos de digestión de muestras en CSIC

ANEXO II

PLANTILLA DE ENCUESTA EN GRANJA

Se toman 24 ejemplares de pescado para la participación en el proyecto *Evaluación de la presencia de nematodos del genero Anisakis en los pescados de acuicultura marina españoles y elaboración de un Manual de Buenas Prácticas para garantizar su ausencia.*

Empresa:	Nº Granja:
Especie:	Fecha:
Localidad:	Zona:
Representante de la empresa:	
Sistema de producción:	
Sistema de sacrificio:	
Lote:	
Fecha de entrada:	
Talla de entrada:	

Tipo de alimentación:	
Marca de pienso (opcional):	
Temperatura del agua:	
¿Presencia de mamíferos marinos?	Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
Especies:	
¿Presencia de aves ictiófagas?	Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
Especies:	
¿Han observado parásitos del tipo <i>Anisakis</i> en su pescado?	Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
¿Han recibido alguna reclamación por presencia de <i>Anisakis</i> ?	Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>

OBSERVACIONES:

Fdo.: Jordi López Ramon
Veterinario ADS ACUIVAL

Fdo.:
Representante de la empresa

ANEXO IV

PLANTILLA DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS EN LABORATORIO CSIC

HOJA DE ENTREGA DE MUESTRAS

Se entregan para su análisis en el Instituto del Frío del CSIC, las muestras de pescado del proyecto *Evaluación de la presencia de nematodos del genero Anisakis en los pescados de acuicultura marina españoles y elaboración de un Manual de Buenas Prácticas para garantizar su ausencia.*

Fecha y hora:
Modo de envío:
Persona que recibe las muestras en el IF-CSIC:
Granjas:

Observaciones:

Fdo.: Jordi López Ramon
Veterinario ADS ACUIVAL

Fdo.:
Representante del IF-CSIC

ANEXO V
PLANTILLA DE DATOS EN MUESTREO Y PROCESADO EN EL LABORATORIO DEL CSIC

DATOS IF

Nº Granja:

Especie:
Area:
Fecha captura:
Tipo de alimentación:
 Marca de pienso
Temperatura agua:
Presencia de mamíferos:
 Especie(s)
Presencia de aves ictiofagas:
 Especie(s)

Granja:
Población:
Sistema de sacrificio:
Sistema transporte:
Sistema de congelación:
Temp. Final congelación:
Tipo de Producción:
Temperatura de conservación:
 Camara nº :

Fecha llegada al IF para el estudio:

Fecha de estudio:		nº de Anisakis												Cabeza y espinas	Incidencias
		Vísceras			Musculatura ventral				Musculatura dorsal						
Nº pez	Tª Digestión (°C)	Peso vísceras (g)			Izq		Dcha		Izq		Dcha		Visual/UV		
			Visual/ Piel UV	digeridos (Dig)	Visual/ UV	Dig.	Visual/ UV	Dig.	Visual/ UV	Dig.					
1															
2															
3															
4															
5															
6															
7															
8															
9															
10															
11															
12															
13															
14															
15															
16															
17															
18															
19															
20															
21															
22															
23															
24															

Promedios

ANEXO VI
PLANTILLA DE DATOS DE DIGESTIÓN DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO DEL CSIC

DATOS IF

Nº Granja:

Especie:

Area:

Fecha captura:

Tipo de alimentación:

Marca de pienso

Temperatura agua:

Presencia de mamíferos:

Especie(s)

Presencia de aves ictiofagas:

Especie(s)

Granja:

Población:

Sistema de sacrificio:

Sistema transporte:

Sistema de congelación:

Temp. Final congelación:

Tipo de Producción:

Fecha llegada al IF para el estudio:

Temperatura de conservación:

Camara nº :

Fecha de estudio:		Datos de digestión															Incidencias
		Visceras			Musculatura ventral						Musculatura dorsal						
Nº pez	Tª Digestión (°C)	Peso (g)	V (ml) pepsina	Tiempo de digestión	Izq			Dcha			Izq			Dcha			
					Peso (g)	V (ml) pepsina	Tiempo de digestión	Peso (g)	V (ml) pepsina	Tiempo de digestión	Peso (g)	V (ml) pepsina	Tiempo de digestión	Peso (g)	V (ml) pepsina	Tiempo de digestión	
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	
6																	
7																	
8																	
9																	
10																	
11																	
12																	
13																	
14																	
15																	
16																	
17																	
18																	
19																	
20																	
21																	
22																	
23																	
24																	

Promedios

7. Referencias

Abaunza, P., Villamor, B. and J. R. Pérez. 1995. Infestation by larvae of *Anisakis simplex* (Nematoda: Ascaridata) in horse mackerel, *Trachurus trachurus*, and Atlantic mackerel, *Scomber scombrus*, in ICES Divisions VIIIb, VIIIc and IXa (N-NW of Spain). *Scientia Marina*, 59(3-4): 223-233.

Abollo, E., D'Amelio, S., Pascual, S., 2001, Fitness of the marine parasitic nematode *Anisakis simplex* s. str. in temperate waters of the NE Atlantic. *Dis Aquat Organ* 45, 131-139.

Angot, V., Brasseur, P., 1993, European farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) are safe from anisakid larvae. *Aquaculture* 118, 339-344.

APROMAR. *La acuicultura marina de peces en España 2011*. Cádiz.

Audicana, M.T., Ansotegui, I.J., Fernández de Corres, L., Kennedy, M.W. 2002. *Anisakis simplex*: dangerous - dead and alive?. *Trends Parasitol.*, 18:20-25

Audicana, M.T., Kennedy, M.W., 2008, *Anisakis simplex*: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. *Clin Microbiol Rev* 21, 360-379

Audicana, MT, Fernandez de Corres, L., Muñoz, D. Fernandez E., Navarro, J.A., Del Pozo, M.D. 1995. Recurrent anaphylaxis caused by *Anisakis simplex* parasitizing fish. *J. Allergy Clin Immunol.*, 96:558-560.

Carvajal, J., Cattán, P. E., Castillo, C. and P. Schatte. 1979. Larval anisakids and other helminths in the hake *Merluccius gayi* (Guichenot) from Chile. *Journal of Fish Biology*, 15, 671-677.

Daschner, A., Alonso-Gómez, A., Cabañas, R., Suarez-de-Parga, J., López-Serrano, M., 2000, Gastroallergic anisakiasis: borderline between food allergy and parasitic disease-clinical and allergologic evaluation of 20 patients with confirmed acute parasitism by *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol* 105, 176-181.

De Ley, P. and Blaxter, M. L. 2004. A new system for Nematoda: combining morphological characters with molecular trees, and translating clades into ranks and taxa. In: (R. C. Cook and D. J. Hunt, Eds) *Nematology Monographs and Perspectives*, 2. Brill, Leiden-Boston. 633-653.

Deardorff, T.L., Kent, M.L., 1989, Prevalence of larval *Anisakis simplex* in pen-reared and wild-caught salmon (Salmonidae) from Puget Sound, Washington. *J Wildl Dis* 25, 416-419.

Delyamure, S. L., Kurochkin, Y. V. and Skyabin, A. S.1964. Contributions to the helminth fauna of the Caspian seal (*Phoca caspica* Gm.). *Trudy Astrakhanskogo Zapovednika*, 9: 105-118.

EFSA-European Food Safety Authority. 2010. Scientific opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA J.* 8(4):1543:1-91. doi:10.2903/j.efsa

.2010.1543. En: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1543.pdf>. Acceso 28 Marzo 2011

Espiñeira, M., Herrero, B., Vieites, J. M., and Santaclara, F. J. 2010. Detection and identification of anisakids in seafood by fragment length polymorphism analysis and PCR-RFLP of ITS-1 region. *Food Control*, 21, 1051-1060.

FAO. Departamento de Pesca. The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA) 2010. Roma. 2011.

FAO. FishStat 2009. Base de datos de producciones de acuicultura y pesca.

Federación Europea de Productores de Acuicultura 2011. Production Reports of the Member Associations of the FEAP 1996-2010.

Fundación Observatorio Español de Acuicultura. *Indicadores de acuicultura 2009*. Madrid.

Incorvaia, IS and Hernández D.R. 2006. Nematodes parásitos como indicadores biológicos de *Macruronus magellanicus* (Parasites nematodes as biological tags of *Macruronus magellanicus*). INIDEP Informe Técnico 61 Diciembre 2006. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), Mar del Plata, Argentina, 36 pp

Inoue, K., Oshima, S., Hirata, T. and Kimura, I. 2000. Possibility of anisakid larvae infection into farmed salmon. *Fish. Sci.* 66, 1049-1052.

International Union of Immunological Societies. 2011. Allergen nomenclature. Allergen Nomenclature Sub-Committee. En: <http://www.allergen.org/Allergen.aspx>. Acceso: 14 April 2011.

Junta Nacional Asesora de Cultivos Marinos (JACUMAR) 2011. Producciones de acuicultura en España. Secretaría General del Mar. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.

Karl H, 2008. Nematode larvae in fish on the German market - 20 years of consumer related research. *Arch Lebensmittelhyg* 59:107-116

Kasuya S., H. Hamano and S. Izumi. 1990. Mackerel induced urticaria and *Anisakis*. *Lancet*. 335: 665.

Køie M., Berland B., Burt M.D.B. 1995. Development to third-stage larva occurs in eggs of *Anisakis simplex* and *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae). *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, 52 [Suppl 1]:134-139

Levsen, A., Midthun, E., 2007, Occurrence and spatial distribution of *Anisakis* sp. in three commercially important pelagic fish stocks from the NE Atlantic, with comments on the significance to consumer safety. *Parassitologia* 2, 402-403.

Lunestad, B.T., 2003, Absence of nematodes in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in Norway. *J Food Prot* 66, 122-124.

Marty, G.D., 2008, Anisakid larva in the viscera of a farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 279, 209-210.

Mattiucci, S., Paggi, L., Nascetti, G., Portes Santos, C., Costa, G., Di Benedicto, A. P., Ramos, R., Argyrou, M., Cianchi, R., Bullini, L. 2002. Genetic markers in the study of *Anisakis typica* (Diesing, 1860): larval identification and genetic relationships with other species of *Anisakis* Dujardin, 1845 (Nematoda: Anisakidae). *Syst. Parasitol.*, 51: 159-170.

McClelland, G., Misra, R. K. and D. J. Martell. 1990. Larval anisakine nematodes in various fish species from Sable Island Bank and vicinity, p 83-118. In W. D. Bowen (ed.) Population biology of sealworm (*Psudoterranova decipiens*) in relation to its intermediate and seal hosts. *Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences*, 222.

Mladineo, I. 2003 *Anisakis simplex* in the Adriatic Sea. *Periodicum Biologorum*, 105(4): 389-392

Moneo, I; Caballero, M.L. 2002. Las larvas de *Anisakis simplex* incubadas en medio ácido diluido liberan alérgenos que pueden tener utilidad en diagnóstico clínico. *Alergol Inmunol Clin*. 17: 210-207,

Moneo, I., Caballero, M.L., Gómez, F., Ortega, E., Alonso, M.J. 2000. Isolation and characterization of a major allergen from the fish parasite *Anisakis simplex*. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 106: 177-182.

Moneo I, Caballero ML, Gonzalez-Muñoz M, Rodriguez-Mahillo AI, Rodriguez-Perez , Silva A. 2005. Isolation of a heat-resistant allergen from the fish parasite *Anisakis simplex*. *Parasitol Res*. 96: 285–289.

Peñalver, J., Dolores, E.M., Muñoz, P., 2010. Absence of Anisakidae larvae in farmed European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) in Southern Spain. *J. Food Protec.* 7, 1332–1334.

Real Decreto (RD) 1420/2006 de 1 de diciembre, sobre prevención de la parasitosis por *Anisakis* en productos de la pesca suministrados por establecimientos que sirven comida a los consumidores finales o a colectividades. BOE núm. 302

Reglamento (CE) No 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal (DO L 226 de 25.6.2004, p. 22). Corrigendum to Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin. (OJ L 139,30.4.2004) En: <http://eur-lex.europa.eu/JOHtml.do?uri=OJ:L:2004:226:SOM:EN:HTML> Acceso: Diciembre 2008

Reglamento (CE) No 854/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 por el que se establecen normas específicas para la organización de controles oficiales de los productos de origen animal destinados al consumo humano (L 139/206 Diario Oficial de la Unión Europea 30.4.2004)

Rodríguez-Mahillo AI. 2006. Clonación y caracterización de alérgenos recombinantes de *Anisakis simplex*. Valoración de su utilidad en el diagnóstico de la Anisakiasis. Doctoral Thesis. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología Molecular, Universidad Autónoma de Madrid, Spain. pp 131

Rodríguez-Mahillo AI, González-Muñoz M., Moneo I, Solas MT, Mendizábal A, De las Heras C., Tejada M. 2008. Allergenic Properties and Cuticle Microstructure of

Anisakis simplex L3 after Freezing and Pepsin Digestion. Journal of Food Protection, 71(12) 2578-2581

Rodríguez-Mahillo AI., González-Muñoz M, de las Heras C, Tejada M and Moneo I. 2010, Quantification of *Anisakis simplex* allergens in fresh, long-term frozen and cooked fish muscle. Foodborne Pathogens and Disease, 7(8) 967-973.

Rückert S, Klimpel S, Al-Quraishy S, Mehlhorn H, Palm HW. 2008. Transmission of fish parasites into grouper mariculture (Serranidae: *Epinephelus coioides* (Hamilton, 1822) in Lampung Bay, Indonesia. Parasitol Res. Oct 15, 1226-1227 Rückert y col, 2008).

Skov, J., Kania, P.W., Olsen, M.M., Lauridsen, J.H., Buchmann, K., 2009, Nematode infections of maricultured and wild fishes in Danish waters: A comparative study. Aquaculture 298, 24-28.

Smith, J.W., 1984, The abundance of *Anisakis simplex* L3 in the body cavity and flesh of marine teleosts. International Journal for Parasitology 14, 491-495.

Solas MT, García ML, Rodríguez-Mahillo AI, González-Muñoz M., De las Heras C., Tejada M. 2008. *Anisakis* antigens detected in fish muscle infested with *Anisakis simplex* L3. J of Food Protection, Vol. 71, (6), 1273-1276,

Solas MT, García ML, De las Heras C., Rodríguez-Mahillo AI, González-Muñoz M., Moneo, I., Mendizábal A. and Tejada M. 2009 *Anisakis simplex* antigens in fresh and frozen-thawed muscle of anchovies in vinegar. Food Sc. Tech. Int. 15; 139-148,

Tejada M, Solas MT, De las Heras C, Rodríguez-Mahillo AI, González-Muñoz M, Moneo I, Mendizábal A. 2007. Antigenic activity of *Anisakis* larvae is conserved after food processing and pepsin treatments. Parasitologia, 49(2) 406,

Tejada, M. 2009a Efecto de los tratamientos dados al pescado sobre la capacidad de infestación de las larvas de *Anisakis* y sobre sus antígenos. CTC Alimentación-41(9):7-16,

Tejada, M. 2009b *Anisakis*: efecto de los tratamientos dados al pescado en las larvas y en sus alérgenos. Revista Alimentación, Nutrición y Salud. Alim. Nutri. Salud . 16 (3) 71-83,

Tejada M. 2009c Seguridad alimentaria en pescados: *Anisakis*. Capítulo 5. En "Seguridad alimentaria e higiene de los alimentos". Coordinador: Salvio Jiménez Pérez. Instituto Tomás Pascual Sanz para la Nutrición y la Salud y Real Academia de Ciencias Veterinarias de España, Ed., pp: 107-127. (183 pp). ISBN 978-84-692-6685-4

Tejada, M., Solas, MT., Navas, A. and Mendizábal, A. 2006a Scanning Electron Microscopy of *Anisakis* Larvae following Different Treatments. Journal of Food Protection. 69(6) 1379-1387,

Tejada, M., Solas, M.T, Navas, A and Mendizábal, A. 2006b. Effect of freezing and different heat treatments on *Anisakis* larvae: preliminary study. In "Seafood research from fish to dish" Quality, safety and processing of wild and farmed fish. J.B. Luten; C. Jacobsen; K. Bekaert; A. Sæbø; J. Oehlenschläger Eds. Wageningen Academic Publishers, 309-316

U.S. FDA, 2001 FDA/CFSAN. 2001. Processing Parameters Needed to Control Pathogens in Cold Smoked Fish - Potential Hazards in Cold-Smoked Fish: Parasites. Chapter V. U. S. Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition.

U.S. FDA, 2011 Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance. Fourth Edition. April 2011, Department of Health and Human Services. Public Health Service. Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition. Office of Food Safety. Chapter 5 Parasites pag 91-98. Disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/Seafood/FishandFisheriesProductsHazardsandControlsGuide/UCM252393.pdf>

Urawa S, Fujisaki Y. 2006 Heavy infection of *Anisakis simplex* (Nematoda: Anisakidae) larvae in the muscle of maturing chum salmon: a preliminary report. NPAFC Doc. 993

Valero, A., M. I. Paniagua, I. Hierro, V. Díaz, M. J. Valderrama, R. Benítez, and F. J. Adroher. 2006. Anisakid parasites of two forkbeards (*Phycis blennoides* and *Phycis phycis*) from the Mediterranean coasts of Andalucía (Southern Spain). Parasitol. Int. 55:1-5.

Van Thiel, P.H., Kuipers, F.C. and Roskam, R.T. 1960. A nematode parasitic to herring causing acute abdominal syndromes in man. Trop. Geogr. Med., 12:97-113.

Vidaček, S. De las Heras C. and Tejada M. 2009a Quality of fish muscle infested with *Anisakis simplex*. Food Sc. Tech. Int.; 15(3):283-290,

Vidacek, S. De las Heras C. Solas MT, Mendizábal, A., Rodríguez-Mahillo AI, González-Muñoz M. and Tejada M. 2009b, *Anisakis simplex* allergens remain active after conventional or microwave heating and pepsin treatments of frozen L3 larvae. JSFA. 89:1997-2002

Vidaček, S. De las Heras C. Solas MT and Tejada M. 2009c Effect of high hydrostatic pressure on mortality of *Anisakis simplex* L3 and on muscle properties of infested hake. *J Sci Food Agric*; 89: 2228-2235

Vidaček, S. De las Heras C. Solas MT, Mendizábal, A., Rodríguez-Mahillo AI, and Tejada M. 2010. Antigenicity and Viability of *Anisakis* larvae heated at different time-temperature conditions. *J Food Prot*; 73(1): 62-68

Vidaček, S. De las Heras C. Solas MT, García, M.L. Mendizábal, A., and Tejada M. 2011. Viability and Antigenicity of *Anisakis simplex* after Conventional and Microwave Heating at Fixed Temperatures. *J Food Protection* 74 (12):2119-2126

Wharton D.A., Hassall M.L. and Alders O. 1999. *Anisakis* (Nematoda) in some New Zealand inshore fish. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 33: 643_648.

Wootton, R., Cann, D.C., 2001, Round worms in fish Marine Laboratory of the Department of Agriculture and Fisheries for Scotland and the Torry Research Station of the Ministry of Agriculture, Fisheries and Food.

World_Health_Organization (WHO), 2004, Report of Joint WHO/FAO workshop on food-borne trematode infections in Asia. Ha Noi, Vietnam, 26-28 November, WHO, WPRO, 1-58.

Wooten, R ; Yoon, GH; Bron, JE , 2009. A Survey of Anisakid Nematodes in Scottish Farmed Salmon. FSAS Project S14008. Disponible en http://foodbase.food.gov.uk//admintools/reportdocuments/355-1-616_S14008__extension__Survey_of_Anisakid_nematodes_FINAL_VERSION.pdf Acceso en Junio 2009

Young, P., 1972. The relationship between the presence of larval anisakine nematodes in cod and marine mammals in British home waters. J Appl Ecol 9, 459-485.

PROYECTO FINANCIADO POR:



UNION EUROPEA
Fondo Europeo
de Pesca (FEP)



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE AGRICULTURA, ALIMENTACIÓN
Y MEDIO AMBIENTE

