

LA ALERGIA POR ANISAKIS Y MEDIDAS DE PREVENCIÓN

25/10/2005

Fuente: Comité Científico de la AESA

ÍNDICE

1. Introducción

- 1.1. Ciclo biológico
- 1.2. Antígenos (alergenos) de *Anisakis*
- 1.3. Aspectos clínicos y diagnósticos

2. Epidemiología de las reacciones alérgicas por *Anisakis*. Factores asociados.

3. Medidas para la reducción del riesgo asociado con *Anisakis*

- 3.1. Producción primaria
- 3.2. Prácticas durante la captura y manipulación a bordo
- 3.3. Pescado fresco. Manipulación en tierra e inspección
- 3.4. Productos de la pesca procesados

3.4.1. Efecto de los tratamientos tecnológicos

- 3.4.1.1. Congelación
- 3.4.1.2. Tratamiento térmico
- 3.4.1.3. Irradiación
- 3.4.1.4. Altas presiones

3.4.2. Efecto de conservadores

- 3.4.2.1. Salazón
- 3.4.2.2. Acidificación

4. Recomendaciones al consumidor y a la restauración colectiva

- 4.1. Recomendaciones para la población normal.
- 4.2. Recomendaciones para la población sensibilizada.

5. Legislación

6. Otros documentos de interés

7. Referencias bibliográficas

1. INTRODUCCIÓN

La familia *Anisakidae*, incluye nematodos redondos, de cuerpo no segmentado, parásitos de peces capaces de producir problemas clínicos en los humanos como consecuencia del consumo de pescado parasitado. En conjunto, la enfermedad recibe el nombre de anisakidosis o anisaquiosis; si la parasitación implica los géneros *Anisakis*, *Pseudoterranova* y *Contracaecum*, las denominaciones correctas son, respectivamente, anisakiosis (anisaquiosis), pseudoterranovosis y contracecosis [1].

En el género *Anisakis* se incluye *A. simplex* y, de menor interés por la frecuencia de su implicación, *A. physeteris*. *A. simplex* se considera un complejo, al que se acostumbra a referir como *A. simplex* 'sensu lato' (s.l.), que incluye *A. simplex* 'sensu stricto' (s.s) (*A. simplex* B),

A. pegreffii (*A. simples* A) y *A. simples* C. Aunque no se dispone de mucha información al respecto, parece que por su abundancia en el hemisferio norte, *A. simples* (s.s.) es la especie más importante desde el punto de vista sanitario.

1.1. Ciclo biológico

El parásito adulto suele encontrarse en el estómago de gran variedad de mamíferos marinos que actúan como hospedadores definitivos, en particular cetáceos (delfines, ballenas, marsopas, orcas, narvales, cachalotes, etc.) y más raramente pinnípedos (focas, leones marinos, morsas, etc.). Los huevos del parásito, no embrionados, acceden al agua de mar envueltos en las heces y en este medio tiene lugar su desarrollo embrionario que necesita de dos mudas (L1 a L2 y L2 a L3), las cuales se producen dentro del huevo y, ya en forma de L3, se liberan al medio después de la eclosión.

Las L3 pueden sobrevivir en el agua no más de 1 semana a 24°C y hasta 14 semanas a una temperatura de 4-10°C. Para que el ciclo continúe han de ser ingeridas por un hospedador intermediario, bien directamente (en el caso de eufásidos, un tipo de pequeños crustáceos) o indirectamente a través de un copépodo que actúa como un hospedador de transporte (o paraténico) que sirven como alimento a los crustáceos. En los crustáceos, las L3 pierden su vaina cuticular y completan su desarrollo en el hemocele.

Los crustáceos eufásidos o los copépodos sirven de alimento de peces teleósteos (principalmente) y cefalópodos, a los que pasan las L3 y se comportan como nuevos hospedadores paraténicos de esta fase. Una vez ingeridas, en el caso de los calamares por ejemplo, las L3 se implantan en la pared externa del estómago o en la musculatura del manto, mientras que en los peces teleósteos forman espirales bajo el tejido conectivo del hígado y otras vísceras, sin descartar su integración en la musculatura esquelética o moviéndose libremente en la cavidad corporal.

Entre las numerosas especies de peces y cefalópodos en las que se han descrito parasitaciones por la L3 de *A. simples*, algunas son de importancia comercial como el arenque, la sardina, el boquerón, el bacalao, el salmón, la merluza, el abadejo, el rape, el bonito, la caballa, el rodaballo, la bacaladilla, el besugo, la gallineta, la brótola, el calamar, etc., con índices de parasitación importantes, que en algunos casos llegan al 30% o más [2]. Se ha descrito una cierta relación entre grado de parasitación y la edad y tamaño del pez, aunque (al menos en algunos casos, como en el bacalao) también se citan límites.

Las larvas L3 pueden observarse enrolladas en espiral plano en el músculo o vísceras de los peces o cefalópodos. Morfológicamente su cuerpo es cilíndrico, blanquecino y de unos 30 mm de longitud; sin embargo, cuando están encapsuladas en la musculatura de los peces, varía su aspecto, adaptando en ocasiones un color pardo [3].

El ciclo se completa cuando los hospedadores definitivos (cetáceos y pinnípedos, fundamentalmente) ingieren los intermediarios portadores de L3. En los mamíferos marinos las L3 penetran en la mucosa del estómago y ahí sufren las dos últimas mudas (L3 a L4 y L4 a L5) alcanzando la forma adulta y la madurez sexual.

El hombre es un hospedador ocasional, debido a la ingestión de pescados contaminados. En él la larva L3 no puede completar su ciclo vital. El contagio y la transmisión de *A. simples* y de la anisakiidosis correspondiente se asocia al consumo de pescado crudo o ligeramente curado o condimentado. Son hábitos alimentarios que se corresponden sobre todo con culturas orientales, como sucede en Japón, pero también en otros lugares. De este modo el consumo de *sushi* o de *sashimi* en el caso del Japón, de arenques salados o escabechados en el de Holanda, de *gravlax* en Noruega, Finlandia o Suecia, de boquerones en vinagre en España, de *lomi-lomi* en Hawái o de *ceviche* en varios países de América latina, se atribuye habitualmente como causa probada de contagio. En ocasiones también se han considerado los moluscos (mejillón, ostra) y crustáceos (langosta, cigala) como posibles transmisores, aunque no ha podido confirmarse.

1.2. Antígenos (alergenos) de *Anisakis*

Las L3 y L4 de *A. simples* incluyen muchos componentes antigénicos con capacidad para inducir una respuesta inmune por parte del hospedador parasitado, aunque su grado de adaptación evolutiva hace de la variabilidad sea la norma habitual, tanto en dependencia del parásito como del hospedador.

Desde el punto de vista estructural y funcional *A. simples* agrupa tres tipos de antígenos:

1. Antígenos Somáticos. Son los antígenos más abundantes con un peso molecular entre 13-150 kDa. Algunas de estas proteínas presentan reactividad cruzada con otros ascáridos. Estos antígenos se obtienen por homogeneización de las larvas enteras y contienen todas las proteínas solubles del parásito [4].

Sólo resultan funcionales después de la muerte y degradación histolítica del parásito.

2. Antígeno ES (de excreción-secreción). Son moléculas procedentes del propio parásito y que se liberan al medio durante la infección. Se sintetizan en dos estructuras corporales, la glándula esofágica dorsal o las células secretoras del tracto digestivo, las cuales constituyen la mayor fuente de enzimas histolíticas (con actividad proteolítica e hialuronidasa). Estas moléculas ayudan al parásito a penetrar en la mucosa gástrica y pueden degranular mastocitos en ratones sensibilizados. Los anticuerpos frente a estos antígenos son los primeros en aparecer [5]. Este complejo antigénico puede obtenerse mediante incubación de las larvas vivas en un medio de cultivo apropiado durante largos periodos de tiempo en el que es liberado por las larvas [4, 6]. Los pesos moleculares de las proteínas de este antígeno son diversos, pero se ha demostrado que las de bajo peso molecular (14, 17 y 18 kDa) sólo son reconocidas por los sueros de los ratones infectados con la larva viva del *A. simplex*. Una explicación puede ser que los antígenos con bajo peso molecular se producen únicamente cuando la larva esta viva [5].
3. Antígenos de Superficie. Corresponden a moléculas expresadas en la cutícula del parásito, que también se encuentran en otros nematodos. Este antígeno se expresa cuando ha tenido lugar la ecdisis, es decir, la transición interlarvaria (de L3 a L4). Aunque se ha sugerido que son menos antigénicas y específicas que los antígenos ES y somático, se ha demostrado en estudios recientes que son fuente de muchas proteínas reconocidas por los anticuerpos del ratón infestado. Posiblemente estas moléculas juegan un papel importante en el desarrollo de un estímulo crónico, como en el caso de los granulomas [7].

La mayor abundancia y funcionalidad en la respuesta inmune corresponde a los antígenos somáticos o internos. Entre estos se incluyen numerosas proteínas de tamaño variable, entre 13 y 150 kDa. Las moléculas más pequeñas sólo son reconocidas por el suero de animales infectados experimentalmente con larvas L3 vivas, lo que sugiere su producción en el curso de la infección. En *A. simplex* se ha descrito un antígeno complejo de pequeño tamaño (14 kDa), de origen tanto ES como somático, cuya función principal parece relacionarse con el transporte de lípidos en el líquido pseudocelómico y tejido conectivo. También se ha observado que mientras los antígenos ES y de superficie son poco específicos, los somáticos lo son mucho más, considerándose componentes muy conservados durante el proceso de desarrollo del parásito [8].

En el suero de pacientes con anisakiosis se detectan grandes cantidades de IgE específica para determinados antígenos de *A. simplex*, por lo que se considera que se trata de verdaderas reacciones de hipersensibilidad o alergia de tipo I (inmediata). En el pasado reciente ha existido cierta controversia acerca del origen de los alérgenos de *A. simplex*, ya que varios informes preliminares [9, 10] sostenían la relación entre antígenos termoestables, procedentes de larvas muertas capaces de soportar las condiciones del cocinado, y la presencia de las manifestaciones alérgicas en pacientes sensibilizados. Más recientemente, sin embargo, diversos experimentos parecen concluir que sólo la presencia de larvas vivas en el pescado de consumo pueden originar respuestas alérgicas [11-13] y que aquellos casos en los que se descubre IgE específica en un paciente, sin presencia aparente de síntomas, deben interpretarse, simplemente, como situaciones de parasitación que pasaron desapercibidas [14, 15]. Parece, por lo tanto, que es necesaria la infección activa para que se desencadene una reacción alérgica o, lo que es lo mismo, que los alérgenos de *A. simplex* sólo interactúan con el sistema inmune del hospedador cuando el parásito los inocula en sus tejidos.

Se han identificado, al menos, cuatro antígenos con capacidad alérgica (alérgenos principales) [16] que incluyen productos de peso molecular (PM) relativamente pequeño. **Ani s 1** posee un PM de 24 kDa [17] y se ha encontrado en la glándula excretora, constituyendo el antígeno SE citado [18].

Ani s 2, también denominado paramiosina, se encuentra en el cuerpo de la larva y tiene un PM de 97 kDa [19]. **Ani s 3** corresponde a una tropomiosina, con un PM de 41 kDa [20, 21]. **Ani s 4** es un alérgeno de bajo PM (9 kDa) procedente del cuerpo de la larva, resistente al calor y a la pepsina, lo que podría explicar la aparición de síntomas después de la ingestión de pescado bien cocido o en conserva [22]. Mención aparte merece la aportación de Lorenzo [14] acerca de la presencia de alérgenos de alto peso molecular, de hasta 154 kDa, reconocidos por el anticuerpo monoclonal UA3 que además de inducir fundamentalmente IgE, parece que

también potencian la formación de IgG4 e IgG1.

1.3. Aspectos clínicos y diagnósticos

El hombre se contagia cuando consume pescado crudo o insuficientemente cocinado, parasitado con L3. Pueden encontrarse L3 en el tracto gastrointestinal humano, en el que incluso se han descrito L4 y formas de transición L3 a L4, lo que prueba que aunque no se trata de un hospedador definitivo ideal, sí permite que, en condiciones adecuadas, continúe el desarrollo larvario.

En contraste con otras infecciones por nematodos, la enfermedad puede deberse a un solo parásito, aunque se han descrito infestaciones masivas [23, 24].

Los síntomas se desarrollan como resultado de una reacción inflamatoria, cuando la cabeza de la larva se adhiere o penetra en la mucosa del tubo digestivo. Las manifestaciones clínicas dependerán de la zona del tubo digestivo donde se localice la larva y del tipo de reacción a que de lugar.

El sitio de localización más frecuente es el estómago [25, 26] o, también, el intestino [27, 28]. La anisakuosis gástrica se caracteriza por dolor abdominal de tipo cólico, localizado en epigastrio, que puede acompañarse de náuseas, vómitos y, si también afecta al intestino delgado, de alteraciones del ritmo intestinal. En este caso, el diagnóstico puede confirmarse mediante endoscopia, con visualización del parásito, cuya extracción hará desaparecer los síntomas. Cuando el proceso presenta un curso crónico, la formación de abscesos o granulomas gástricos [29] o intestinales puede simular cuadros de pseudoobstrucción intestinal, apendicitis aguda o episodios de enfermedad inflamatoria intestinal [30-32]. Se han descrito cuadros extradigestivos en relación con la penetración de la larva a través de la pared del tubo digestivo y su migración a pulmón, hígado u otros órganos [33].

La larva de *A. simplex* puede producir también una reacción alérgica de tipo inmediato, mediada por IgE, dando lugar a manifestaciones sistémicas que van desde la urticaria o angioedema hasta el choque anafiláctico [34, 35]. Se han descrito casos de enfermedad ocupacional (asma y conjuntivitis) por sensibilización a *A. simplex* [36, 37], así como dermatitis de contacto [38] y artralgias tras la exposición al parásito [39]. En la historia clínica de estos pacientes es característico el antecedente próximo (minutos u horas) de la ingestión de pescado fresco o poco cocinado; asimismo, refieren buena tolerancia en varias ocasiones al pescado aparentemente implicado.

Algunos pacientes presentan un cuadro mixto de urticaria y/o angioedema (síntomas alérgicos) acompañado de clínica abdominal (epigastralgia, vómitos, etc.), que se ha descrito como "anisakuosis gastroalérgica" [11, 40]. En esta situación los síntomas digestivos suelen preceder a los de estirpe alérgica, con una latencia media respecto a la ingestión del pescado parasitado de 3 horas y 5 horas, respectivamente.

El hemograma suele permanecer dentro de los parámetros establecidos como normales, aunque la fórmula leucocitaria puede mostrar leucocitosis con neutrofilia y eosinofilia no muy intensa, observándose en algunos casos un aumento posterior de la cifra de eosinófilos a partir de las 24 horas del inicio del cuadro clínico. Las determinaciones bioquímicas no suelen verse alteradas, salvo que sean secundarias a complicaciones del tipo pseudo-obstrucción (vómitos de repetición). Los niveles séricos de proteína catiónica del eosinófilo pueden estar muy elevados, aunque esta determinación no es de uso habitual [41].

Las pruebas de diagnóstico por imagen no suelen ser necesarias. En los cuadros intestinales sería de elección la ecografía, aunque los signos observados son inespecíficos: engrosamiento de la pared intestinal, líquido libre, estrechamiento de la luz y disminución del peristaltismo [41].

En todas estas situaciones se obtiene una prueba cutánea positiva, realizada, como norma general, mediante punción (*prick-test*) frente a antígeno somático de *A. simplex*. Se acompaña de unos valores elevados de IgE específica para *A. simplex*, y de una importante elevación de la tasa de IgE sérica total [42, 43]. Sin embargo, estos datos tienen una baja especificidad y no constituyen, por sí mismos, un signo de enfermedad o de parasitación actual por *A. simplex*, sino que deben valorarse en el contexto de los antecedentes y del cuadro clínico del paciente. A diferencia de otras situaciones como, por ejemplo, la alergia alimentaria, la prueba de provocación no es útil ni practicable, ya que, obviamente, no es posible utilizar larvas vivas y, con larvas muertas, no se ha conseguido reproducir los síntomas [13, 44].

La determinación seriada de IgE total y de IgE específica frente a *A. simplex* puede ser útil en el diagnóstico de la parasitación aguda. Daschner et al. [45] determinaron ambos parámetros a las 24 horas y un mes después de la reacción, objetivando un incremento de la IgE total en un 85,36% (35/41) de pacientes y de la IgE específica en el 90,24% (37/41). En el 89% de los pacientes con gastroscopia positiva se produjo un aumento de IgE total y específica ($p=0,02$), siendo éste mayor que el de los pacientes de gastroscopia sin hallazgo de parásito.

En la baja especificidad de prueba cutánea e IgE específica tiene considerable importancia la presencia de determinados antígenos, como tropomiosina, en las larvas de *A. simplex*. Se ha relacionado a la tropomiosina existente en el *A. simplex* con la reactividad cruzada que presenta este parásito con otros artrópodos como *Blatella germanica* y *Chironomus spp. Larvae*, demostrada mediante estudios de inhibición de fijación de IgE específica e inhibición de inmunotransferencia [46]. También estaría relacionada con los ácaros, en mayor medida, *Acarus siro* y *Tyrophagus putrescentiae*, la cucaracha y la gamba [20, 47].

En diversos estudios, basados en técnicas de ELISA y de inmunotransferencia, se ha considerado al antígeno somático como responsable de la existencia de reactividad cruzada entre el *A. simplex* y otros nematodos, como *Ascaris suum*, *Toxocara canis*, *Hysterothylacium aduncum*, *Trichinella spiralis* y *Trichuris muris* [48, 49]. También están presentes en otros nematodos las enzimas con grupo biotina contenidas en los extractos del antígeno somático del *A. simplex* [50].

Los carbohidratos del extracto de *A. simplex* utilizado para el diagnóstico pueden ser los responsables de los falsos positivos de las pruebas diagnósticas. La reactividad cruzada existente entre el antígeno de cuerpo entero de *A. simplex* con otros alérgenos, hace necesaria la utilización de otros antígenos para la realización de las pruebas cutáneas y la determinación de IgE específica, con el objetivo de disminuir la elevada tasa de falsos positivos. El tratamiento previo con periodato (sustancia que destruye las estructuras carbohidratadas) hace desaparecer una banda de peso molecular medio reconocida en inmunotransferencia por sujetos asintomáticos [51]. Otros autores, usando anticuerpos monoclonales han obtenido los mismos resultados. Al eliminar los epítopos o-glicanos para el monoclonal UA3, anticuerpo que reconoce dos proteínas de peso molecular de 139 y 154 kDa del *A. simplex*, desaparece en gran medida el problema de la reactividad cruzada [52].

Algunos datos parecen indicar que la utilización selectiva del antígeno secretor-excretor puede aumentar considerablemente la especificidad de las técnicas diagnósticas, ya que sólo se detecta IgE específica frente a este alérgeno en pacientes con anisakirosis gástrica o gastroalérgica [53], pero no es una proteína reconocida por el suero de individuos asintomáticos con prueba cutánea e IgE específica positivas frente al antígeno de cuerpo entero de *A. simplex* [17].

2. EPIDEMIOLOGÍA DE LAS REACCIONES ALÉRGICAS POR ANISAKIS. FACTORES ASOCIADOS.

La anisakirosis es un problema sanitario especialmente importante en aquellos países con elevado consumo de pescado. Es en Japón, por razones obvias (consumo de pescado crudo), donde se contabilizan más del 95% del total de casos denunciados en el mundo. En su conjunto, la cifra de casos descrita en EE.UU. y Europa se puede considerar discreta (alrededor de 50 casos en EE.UU. y unos 600 en Europa) aunque en el viejo continente la casuística se concentra en algunos países concretos como Holanda, Alemania, Francia o España con una tendencia que se considera creciente, entre otras razones, por el mejor conocimiento de la enfermedad por parte de los médicos y la disponibilidad de mejores instrumentos para llevar a cabo el diagnóstico (por ejemplo la toma de muestras por endoscopia), así como por el desarrollo creciente de una metodología de laboratorio cada vez más sensible y específica, sin olvidar la globalización del suministro de alimentos. En España los primeros casos notificados de anisakirosis y alergia debidos a *A. simplex* se refirieron en 1991 y 1995 [9, 54].

La frecuencia y distribución de los problemas clínicos derivados de la exposición a *Anisakis* puede inferirse a partir de tres fuentes de información:

- La distribución de la contaminación de los alimentos, ya sea en origen (crudos) o después de preparados para el consumo.
- La distribución de anticuerpos (IgG e IgE) frente a *A. simplex* en sujetos asintomáticos, en la población general o en sujetos que consultan en el sistema sanitario por cuadros gastrointestinales o alérgicos.

- La distribución de las formas clínicas derivadas de la infestación, tanto la anisakirosis invasiva como los cuadros alérgicos (urticaria, angioedema, etc..) en población consultante en el sistema sanitario.

La infección por *A. simplex* presenta distribución mundial y afecta al pescado crudo o poco cocinado. Los principales pescados implicados dependen de las zonas. Por ejemplo, en Japón los principales son la caballa y, menos, el calamar, mientras que en EE.UU. es el salmón del Pacífico. En España se puede encontrar en el 36% del pescado muestreado en lonjas de los puertos y su frecuencia es mayor en los de mar Cantábrico (50%) y océano Atlántico (36%) y sustancialmente menor en los del mar Mediterráneo (6%) [55]. No se dispone de estudios epidemiológicos acerca de la frecuencia de *A. simplex* con capacidad infectiva en muestras amplias de productos ya preparados para el consumo, pero parece razonable que varíe con el tipo de pescado y los modos de preparación del mismo. En nuestro país, seguramente por el método de preparación, la mayor parte de los casos se relacionan con el consumo de boquerones aliñados con vinagre y aceite y, menos, en el caso de sardinas aliñadas con limón, merluza y otros pescados insuficientemente cocinados [14].

En adultos españoles, segmento de edad más afectado, la prevalencia de sensibilización a *A. simplex* varía del 6% al 56% según los diversos estudios. La gran variación en los resultados posiblemente se explica, en parte, por diferencias metodológicas entre los estudios y la zona geográfica de los mismos. Por último, tampoco se dispone de análisis de los cuadros clínicos derivados de la exposición a *Anisakis* a partir de la explotación sistemática de los registros de Atención de Primaria o del Conjunto Mínimo Básico de datos al Alta Hospitalaria.

3. MEDIDAS PARA LA REDUCCIÓN DEL RIESGO ASOCIADO CON ANISAKIS

Como para todos los peligros asociados con los alimentos, se debe contemplar la totalidad de los eslabones de la cadena producción-consumo.

3.1. Producción primaria

Probablemente es la más difícil de controlar. Sin embargo, a este nivel, la presencia de larvas de *Anisakis* en pescado sin eviscerar puede reducirse:

- Evitando faenar en determinadas áreas, capturar determinadas especies o determinadas tallas de una especie [56]. Se refiere a las especies de peces que con mayor frecuencia están infectadas con *Anisakis*.
- Evaluando y controlando el impacto de la actividad humana en la incidencia del parásito; por ejemplo, la importancia de ciertas prácticas, como arrojar al mar las vísceras infestadas del pescado [57]. Se ha comprobado que en pescado procedente de acuicultura (salmón) alimentado exclusivamente con pienso, la incidencia de larvas de *A. simplex* es prácticamente nula [58].

3.2. Prácticas durante la captura y manipulación a bordo

- La presencia de larvas de *A. simplex* en músculo de pescado eviscerado se debe a la migración post-mortem. Por tanto, es imprescindible que el tiempo que transcurre entre la captura y la evisceración sea mínimo [59].
- La mayor incidencia y número de larvas se detectan en la musculatura hipoaxial. Por ello, la eliminación de esta parte (ventresca o ijada) en las especies que más frecuentemente están infestadas, contribuye a disminuir el riesgo [58, 60, 61].
- La congelación rápida con aire "blast freezing" en el buque es un método eficaz de inactivar las larvas de *Anisakis* aunque es probable que no destruya la capacidad de sensibilización de los antígenos de la larva [59].
- El paquete ovárico (huevas) puede contener larvas vivas pero los huevos, una vez liberados y convenientemente lavados, no contienen el parásito.

3.3. Pescado fresco. Manipulación en tierra e inspección

- Si no se ha llevado a cabo en el buque, debe procederse a la evisceración y lavado de la cavidad abdominal lo más rápidamente posible tras el desembarque y, si es posible, eliminación de la musculatura hipoaxial. Esto último tiene inconvenientes si se va a comercializar entero (poca aceptación por parte del consumidor) y siempre supone una pérdida de casi el 15% [58, 61, 62].
- Examen visual del pescado eviscerado: cavidad abdominal, hígado y lechazas destinadas al consumo humano [61-63].
- En el caso de filetes, examen visual de la superficie (un número representativo de filetes de la partida) y eliminación de las larvas con un cuchillo [58]. Para detectar las larvas en la profundidad del músculo, practicar un examen por transiluminación [58, 61, 63] aunque éste es menos eficaz para *Anisakis* (larvas pequeñas y blanquecinas) que para otros parásitos como *Phocanema* o *Pseudoterranova* [58].

Se puede concluir que, en esta fase, la evisceración, la inspección visual, la eliminación física de las larvas y la exclusión de la musculatura hipoaxial pueden reducir el peligro asociado a *Anisakis*, pero no lo eliminan ni lo reducen hasta un nivel aceptable. Por ello, es necesario congelar previamente los productos que se van a consumir crudos o poco procesados (ahumado en frío, escabechado o marinado).

3.4. Productos de la pesca procesados

3.4.1. Efecto de los tratamientos tecnológicos

3.4.1.1. Congelación

Un número elevado de trabajos demuestra la eficacia de la congelación y el almacenamiento a congelación para inactivar las larvas de *Anisakis*. La eficacia de este tratamiento depende de varios factores como son la temperatura, el tiempo necesario para que el pescado alcance esa temperatura, el tiempo que se almacena el pescado bajo congelación y el contenido en grasa del pescado [61].

La legislación de la UE [62] señala que el pescado que se va a consumir crudo o prácticamente crudo debe congelarse a $\leq -20^{\circ}\text{C}$ en la totalidad del producto y mantenerse a esa temperatura durante, al menos, 24 horas. Este tratamiento es también obligatorio para productos procedentes de ciertas especies (arenque, caballa, espadín y salmón salvaje del Atlántico o del Pacífico) ahumados en frío (temperatura en el interior de la pieza no sobrepasa los 60°C) y para aquellos en escabeche o salados cuando el proceso no basta para destruir las larvas.

Aunque no especifica si se aplica antes o después de procesar, parece lógico que se haga antes, ya que la congelación altera los productos procesados. Además, al ahumar y salazonar (sin congelar) las larvas vivas se desplazan y aparecen en la superficie del producto, haciéndolo poco apetecible, aunque sea seguro.

Un aspecto importante es la interpretación de " **$\leq -20^{\circ}\text{C}$ durante, al menos, 24h**", especialmente en restauración colectiva y en los hogares, donde no se usan sistemas rápidos de congelación. Al menos en estos casos, habría que considerar separadamente el proceso de congelación, hasta que se alcanzan los -20°C en un equipo doméstico, y el almacenamiento a congelación. De hecho, en la legislación holandesa que fue la pionera en este tipo de tratamientos, se recogía, para arenque, "*congelar de forma que se alcance $\leq -20^{\circ}\text{C}$ en 12 horas y almacenar, a -20°C , otras 24 horas*" y lo mismo recoge la International Comisión on Microbiological Specifications for Foods [64]. En este sentido, Dong et al. [65] señalan que, en un frigorífico doméstico, para alcanzar -20°C en filetes de halibut del Pacífico (*Atheresthes stomias*) fueron necesarias 9,5 horas y, al menos, 60 horas para la inactivación total de las larvas. También Wharton y Aadler [66] hacen énfasis en la importancia del tiempo necesario para alcanzar la temperatura de congelación inactivante.

La FDA [61] especifica "congelación y almacenamiento a $\leq -20^{\circ}\text{C}$ durante 7 días" (tiempo total en un congelador convencional) o congelación a $\leq -35^{\circ}\text{C}$ hasta que solidifique y mantenimiento a la misma temperatura durante 15 horas o congelación a $\leq -35^{\circ}\text{C}$ hasta que solidifique y mantenimiento a $\leq -20^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Se entiende que a $\leq -35^{\circ}\text{C}$ en un congelador comercial.

En resumen, la eficacia de la congelación para inactivar las larvas de *Anisakis* es incuestionable. De hecho, se considera que la congelación es el único PCC (Punto Control

Crítico) eficaz para prevenir la infestación por nematodos cuando se aplica el sistema APPCC (Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos) a la obtención de determinados productos de la pesca (ahumados en frío, por ejemplo) [67, 68]. Sin embargo, en el ámbito doméstico, a la hora de hacer recomendaciones a los consumidores acerca del tiempo que el pescado debe permanecer congelado antes de proceder a escabechar (sin tratamiento térmico previo) o marinar ha de tenerse en cuenta la capacidad de congelación de los frigoríficos domésticos (1 estrella, temperatura mínima alcanzada, -6°C; 2 estrellas, temperatura mínima alcanzada, -12°C; 3 estrellas, temperatura mínima alcanzada, -18°C; 4 estrellas, temperatura mínima alcanzada, -24°C).

3.4.1.2. Tratamiento térmico

Las larvas de *Anisakis* son sensibles al calor. A 55°C, en pescado, se inactivan en 10 a 60 segundos [58] y a 60°C, en un medio, en 1 segundo [64]. La FDA [68] considera que un tratamiento de 60°C en el centro del producto durante 1 minuto es suficiente para matar las larvas, recomendando la ICMSF [64] que se alcancen, al menos, 70°C en el centro de la pieza.

Esto significa que los productos cocinados completamente (hervidos o fritos), los ahumados en caliente (temperatura central de la pieza > 60°C), los pasterizados y los cocinados a vacío "sous vide" son seguros desde el punto de vista de la inactivación del parásito. No lo son los productos ahumados en frío o los cocinados de forma inadecuada a la plancha o en microondas. Las microondas llegan hasta un determinado espesor y, a partir de ahí, la transmisión de calor se hace por conducción, por lo que, en las zonas donde no actúan las microondas, la eficacia dependerá únicamente del tiempo y de la temperatura que se alcance.

3.4.1.3. Irradiación

Las larvas de *Anisakis* son más resistentes que las de otros parásitos, requiriéndose tratamientos de hasta 10 kGy [68]. Hay que considerar que las radiaciones ionizantes afectan negativamente a la calidad organoléptica del pescado.

3.4.1.4. Altas presiones

Los tratamientos con altas presiones son eficaces para inactivar las larvas de *A. simples* aunque afectan al color y al aspecto del producto. En la mayoría de los estudios realizados, la aplicación de 200 MPa inactivaba el 100% de las larvas en 3 a 10 minutos [65, 69].

3.4.2. Efecto de conservadores

3.4.2.1. Salazón

Aunque *A. simples* es sensible a la sal se necesitan elevadas concentraciones durante un período prolongado para inactivar las larvas. Algunos datos sobre el efecto del NaCl se recogen a continuación.

% NaCl en la fase acuosa del tejido muscular (WPS- Water Phase Salt) [58,64]	Tiempo máximo de supervivencia
4-5	6- > 17 semanas
6-7	10-12 semanas
8-9	5-6 semanas
15	4 semanas
20	3 semanas

La salazón en seco inactiva las larvas de la superficie pero, si no es prolongada, generalmente no inactiva las del interior [68].

La sacarosa también inactiva al parásito pero se necesitan concentraciones del 12% durante, al menos, 35 días [64].

3.4.2.2. Acidificación

De los trabajos publicados se deduce que se necesitan 35 días para inactivar las larvas cuando las condiciones del procesado son: 2,4% de ácido acético (pH de la fase acuosa del

músculo, 4,2) y 6% de NaCl [64]. De ello se puede concluir que la sal y el vinagre pueden reducir el peligro asociado a *Anisakis*, pero no lo eliminan ni lo reducen hasta un nivel aceptable. Por ello, es necesario congelar previamente los productos que se van a escabechar o marinar.

4. RECOMENDACIONES AL CONSUMIDOR Y A LA RESTAURACIÓN COLECTIVA

Las recomendaciones para evitar la **infección por *Anisakis*** parecen claras: todos aquellos procedimientos que garanticen la inactivación de las larvas. En el caso de los **episodios alérgicos** es más difícil puesto que no existe un criterio unánime respecto a la causa que genera la reacción de hipersensibilidad. Así, un número importante de trabajos señalan que es preciso el contacto con el parásito vivo y, al parecer, es necesario, además, que se fije en la submucosa del intestino [7, 12, 70]. Sin embargo, otros autores [71, 72] consideran que los tratamientos que inactivan las larvas no son suficientes para destruir su capacidad alérgica y en este sentido se pronunció el Comité Científico de Veterinaria de Salud Pública [59].

En cualquier caso, son varios los estudios que ponen de manifiesto que los tratamientos inactivantes, especialmente la congelación, parecen ser una alternativa eficaz para prevenir la presentación de los síntomas alérgicos [7, 70, 73, 74].

4.1. Recomendaciones para la población general

1. Para pescados y cefalópodos frescos, es conveniente conocer los criterios de frescura (ojos, agallas, consistencia y piel), para así adquirir los especímenes que hayan sido capturados más recientemente (menor tiempo para la migración al tejido muscular).
2. Para pescados de tamaño mediano y grande, procurar adquirirlos eviscerados. Si no lo están, hacerlo inmediatamente. En todos los casos, lavar la cavidad abdominal, examinar visualmente los músculos abdominales y, si es necesario, eliminar la musculatura hipoaxial (ventresca) (eliminación física de las larvas). Cocinar o congelar inmediatamente.
3. No consumir pescados ni cefalópodos crudos ni productos de la pesca ahumados en frío, marinados, en vinagre, ceviche, sushi, o procesados de cualquier otra forma que no garantice la inactivación del parásito, salvo que éstos hayan sido sometidos a congelación comercial o se hayan congelado a -20°C durante una semana (frigoríficos de 3 o 4 estrellas). Comprobar la temperatura del congelador durante el almacenamiento.
4. Asegurar un tratamiento térmico completo mediante cocción o fritura. En restauración, utilizar termómetros de cocina o instrumentos medidores tiempo/temperatura, que se insertarán en el centro de la porción más gruesa. Si no se dispone de termómetro, comprobar que el pescado está "bien hecho", pinchando la pieza con un tenedor o un cuchillo; la carne debe desprenderse fácilmente de la espina y tener un color opaco. Una regla general son 10 minutos para piezas de unos 2,5 cm de grosor, dando la vuelta a los 5 minutos. Cocinar 5 minutos más si se trata de salsas o "en papillote".

El cocinado a la plancha y en microondas es menos seguro que la cocción completa o la fritura. En el caso de tratamiento a la plancha hay que comprobar que está "bien hecho". En el caso del horno microondas, las recomendaciones generales son: 1) elegir la temperatura de forma que sea 14°C superior a la recomendada (en este caso, $74+14^{\circ}\text{C}$); 2) cocinar el pescado cubierto de forma apropiada – el calor húmedo es más eficaz – y dándole una o dos vueltas durante la cocción (evita los puntos fríos); 3) una vez cocinado, dejar reposar en el horno la pieza cubierta, al menos, 2 minutos para que la temperatura pueda distribuirse uniformemente y 4) comprobar que está "bien hecho" [75].

4.2. Recomendaciones para la población sensibilizada

- Evitar la ingesta de pescado crudo o cocinado de forma inadecuada en el microondas o a la plancha.
- Evitar el consumo de pescado poco procesado: salazonado, ahumado, en vinagre, escabechado, marinado, carpaccio, ceviche, preparaciones culinarias orientales, etc.
- Consumir siempre pescado que haya sido congelado (-20°C durante una semana en frigoríficos de 3 o 4 estrellas). Es más adecuado el congelado en alta mar ya que se

eviscera inmediatamente tras la captura (la posibilidad de migración al músculo es menor), el proceso de congelación es muy rápido y la temperatura de almacenamiento muy baja.

- Evitar consumir la región hipoaxial (ventresca o ijada) y pescados pequeños enteros.
- Consumir preferentemente colas de pescados de tamaño grande y pescado de agua dulce o marino cultivado.
- En caso de consumir pescado fuera del hogar, advertir que se es alérgico a *Anisakis* y asegurarse de que el pescado reúne garantías suficientes de ausencia de contaminación por el parásito.

5. LEGISLACIÓN

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 25/06/2004, págs. 22-82.

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. DO L 226 de 25/06/2004, págs.83-127.

Decisión 93/140/CEE: Decisión de la Comisión, de 19.01.93, por la que se establecen las modalidades de control visual para detectar parásitos en los productos de la pesca. DO L 056 de 09/03/1993, pág. 42.

6. OTROS DOCUMENTOS DE INTERÉS

Anónimo. 1998. Opinion of the Scientific Committee on veterinary measures relating to public health - allergic reactions to ingested *Anisakis simplex* antigens and evaluation of the possible risk to human health - 27 april 1998.

Disponible en: http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out05_en.html

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kassai T, Cordero del Campillo M, Euzeby J, Gaafar S, Hiepe T, Himonas CA. Standardized nomenclature of animal parasitic diseases (SNOAPAD). Vet Parasitol 1988; 29: 299-326.
2. Pereira Bueno JM. Algunos aspectos de la epidemiología y prevención de la anisakiosis. Junta de Castilla y León. Consejería de Sanidad y Bienestar Social. Dirección General de Salud Pública: 1992, 64 pp.
3. Audicana M. Controversia en el diagnóstico de alergia a *Anisakis*: Diagnóstico clínico y manejo. Alergol Inmunol Clin 2001; 16: 39-56.
4. Sugane K, Shu-Han S, Matsuura T. Radiolabelling of the excretory-secretory and somatic antigens of *Anisakis simplex* larvae. J Helminthol 1982; 66: 305-309.
5. Iglesias R, Leiro J, Ubeira FM, Santamarina MT, Sanmartín ML. *Anisakis simplex*: antigen recognition and antibody production in experimentally infected mice. Parasite Immunol 1993; 15: 243-250.
6. Sakanari JA, MCKerrow JH. Identification of the secreted neutral proteases from *Anisakis simplex*. J Parasitol 1990; 76: 625-630.
7. Baeza ML, Zubeldia JM, Rubio M. *Anisakis simplex* allergy. ACI International 2001; 13: 242-249.
8. Iglesias R, Leiro J, Ubeira FM, Santamarina MT, Sanmartín ML. *Anisakis simplex*:

stage-specific antigens recognized by mice. *J. Helmitol* 1995; 69: 319-324

9. Audicana MT, Fernández L, Muñoz D. Recurrent anaphylaxis caused by *Anisakis simplex* parasitizing fish. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96:558-60.
10. Del Pozo MD, Moneo I, Fernández de Corres L, Audicana MT, Muñoz D, Fernández E, Navarro JA, García M. Laboratory determinations in *Anisakis simplex* allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97:977-984.
11. Alonso A, Daschner A, Moreno Ancillo A.. Anaphylaxis with *Anisakis simplex* in gastric mucosa. *N Eng J Med* 1997; 337:350-351.
12. López-Serrano MC, Alonso-Gómez A, Moreno A, Daschner A, Suárez J. Anisakiasis gastro-alérgica: hipersensibilidad inmediata debida a parasitación por *Anisakis simplex*. *Alergol Inmunol Clin* 2000; 15: 230-236.
13. Sastre J, Llunch-Bernal M, Fernández E, Marañón F, Quirce S, Arrieta I. Estudio de provocación oral doble ciego controlada con placebo con larvas de *Anisakis simplex* liofilizadas. *Alergol Inmunol Clin* 2000; 15: 225-229.
14. Lorenzo Iglesias S. *Anisakis* y alergia. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. Facultad de Farmacia. Departamento de Microbiología y Parasitología. 2001.
15. Ubeira F.M. et al. Anisakirosis y alergia. Un estudio seroepidemiológico en la Comunidad Autónoma Gallega. Xunta de Galicia. Documentos Técnicos de Saúde Pública Serie B núm. 24. 2000.
16. International Union of Immunological Societies, Allergen Nomenclature Sub-Committee. Allergen Nomenclature. List of allergens as of September 01, 2004. [<http://www.allergen.org/List.htm>].
17. Moneo I, Caballero ML, Gómez F, Ortega E, Alonso MJ. Isolation and characterization of a major allergen from the fish parasite *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 177-182.
18. Gómez-Aguado F, Picazo A, Caballero ML, Moneo I, Asturias JA, Corcuera MT, Casado I, Alonso MJ. Ultrastructural localization of Ani s 1, a major allergen from the fish parasite *Anisakis simplex*. *Parasitol Res* 2003; 89:379-380.
19. Pérez-Pérez J, Fernández-Caldas E, Marañón F, Sastre J, Vernal ML, Rodríguez Bedate CA. Molecular cloning of paramyosin, a new allergen of *Anisakis simplex*. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 123:120-129.
20. Asturias JA, Eraso E, Moneo I, Martínez A. Is tropomyosin an allergen in *Anisakis*? *Allergy* 2000; 55: 898-899.
21. Asturias JA, Eraso E, Martínez A. Cloning and high level expression in *Escherichia coli* of an *Anisakis simplex* tropomyosin isoform. *Mol Biochem Parasitol* 2000;108:263-267.
22. Caballero ML, Moneo I. Several allergens from *Anisakis simplex* are highly resistant to heat and pepsin treatments. *Parasitol Res* 2004; 93:248-251.
23. Daschner A, Alonso-Gómez A, Mora C, Moreno Ancillo A, Villanueva R, López-Serrano MC. Gastroallergic anisakiasis with masive parasitism *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1997; 12: 370-372.
24. Noboro K, Hiroshi I. A case of abdominal syndrome caused by the presence of a large number of *Anisakis* larvae. *Int J Parasitol* 1992; 22: 251-253.
25. Pérez Millán A, Martín Lorente JL, Pérez Álvarez, López Morante A, Sáez-Roguel F, Busteros JI. Úlcera gástrica secundaria a infección por *Anisakis*. *Revista de la ACAD* 1998; 14: 25-27.
26. Romero Ramírez JA, Martínez Conde AE, Olivares Galdeano U, Sancha Pérez A, López

- de Torre J, Barros Ingerto J *et al.* Anisakiasis gástrica diagnosticada por endoscopia. *J Gastroenterol Hepatol* 1997; 20: 306-308.
27. Louredo-Méndez A, Acedo de la Rosa F, Arribas de Paz V, Sanz Ortega E, Bernardo Quirós L, Goyanes Martínez A. Anisakidosis del colon como causa de abdomen agudo. *Rev Esp Enf Digest* 1997; 89: 403-406.
 28. Shirahama M, Koga T, Ishibashi H, Uchida S, Ohta Y, Shimoda Y. Intestinal anisakiasis: US in diagnosis. *Radiology* 1992;185: 789-793.
 29. Tadamori S, Shigeyuki I, Hisato H, Tomonori A, Noriyoshi B, Takashi B. A case of gastric submucosal tumor due to *Anisakis* granuloma. *Jpn J Med Ultrasonics* 1992; 19: 38-43.
 30. Domínguez Ortega J, Cimarra M, Sevilla M, Alonso Llamazares A, Moneo I, Robledo Echaren T, Martínez-Cócera C. *Anisakis simplex*: a cause of intestinal pseudo-obstruction. *Rev Esp Enferm Dig* 2000; 92:132-139.
 31. Del Olmo Escribano M, Cozar Ibañez A, Martínez de Victoria JM, Ureñas Tirao C. Anisakiasis a nivel ileal. *Rev Esp Enferm Dig* 1998; 90: 120-123.
 32. Rushovich AM, Randall EL, Caprini JA, Westerfelder GO. Omental anisakiasis: a rare mimic of acute appendicitis. *Am J Clin Pathol* 1983; 80: 517-520.
 33. Matsuoka H, Nakama T, Kisanuti H, Uno H, Tachibana N, Tsubouchi H, Horii Y, Nava Y. A case of serologically diagnosed pulmonary anisakiasis with pleural efusión and multiple lesions. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 51: 819-822.
 34. Moreno-Ancillo A, Caballero MT, Cabañas R, Contreras J, Martín-Barroso JA, Barranco P, López-Serrano MC. Allergic reactions to *Anisakis simplex* parasitizing seafood. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997; 79: 246-250.
 35. Mendizabal-Basagoiti L. Hipersensitivity to *Anisakis simplex*: a propos of 36 cases. *Allerg Immunol (Paris)* 1999; 31: 15-17.
 36. Armentia A, Lombardero M, Callejo A, Martin Santos JM, Gil FJ, Vega J, Arranz ML, Martínez C. Occupational asthma by *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 831-834.
 37. Añibarro B, Seoane FJ. Occupational conjuntivitis caused by sensitization to *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol*. 1998; 102: 331-332.
 38. Carretero Añibarro P, Blanco Carmona J, García González F, Marcos Durantez M, Alonso Gil L, Garces Sotillas M, *et al.* Protein contact dermatitis caused by *Anisakis simplex*. *Contact Dermatitis* 1997; 37: 247.
 39. Cuende E. Rheumatic manifestations in the course of anaphylaxis caused by *Anisakis simplex*. *Clin Exp Rheumatol* 1998; 16: 303-304.
 40. López-Serrano MC, Alonso Gómez A, Daschner A, Moreno-Ancillo A, Suárez de Parga JM, Caballero MT, Barranco P, Cabañas R. Gastroallergic anisakiasis: Findings in 22 patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 503-506.
 41. Domínguez Ortega J, Martínez-Cócera C. Guía de actuación en patología producida por *Anisakis*. *Alergol e Inmunol Clín* 2000; 15: 267-272.
 42. Kasuya S, Hamano H, Izumi S. Mackerel induced urticaria and *Anisakis*. *Lancet* 1990; 335: 665.
 43. Audicana MT, Fernández de Corres L, Muñoz D. *Anisakis simplex* a new sea-food allergen. *Allergy* 1995; 50 (sup 26): 127.
 44. Sastre J, Lluch-Bernal M, Quirce S, Arrieta I, Lahoz C, Del Amo A, Fernández-Caldas E, Marañón F. A double-blind, placebo-controlled oral challenge study with lyophilized larvae and antigen of the fish parasite *Anisakis simplex*. *Allergy* 2000; 55: 560-564.

45. Daschner A, Alonso-Gómez A, Caballero MT, Suárez de Parga M, López-Serrano MC. Usefulness of early serial measurement of specific and total immunoglobulin E in the diagnosis of gastro-allergic anisakiasis. *Clin Exp Allergy* 1998; 29: 1260-1264.
46. Pascual C, Muñoz-Pereira M, Martín Esteban M. Cross-reactivity between IgE-binding proteins from *Anisakis*, German cockroach, and chironomids. *Allergy* 1997; 52: 514-520.
47. Johansson E, Apponno M, Lundberg M, van Hage-Hamsten M. Allergenic cross-reactivity between the nematode *Anisakis simplex* and the dust mites *Acarus siro*, *Lepidoglyphus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae*, and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Allergy* 2001; 56: 660-666.
48. Iglesias R, Leiro J, Ubeira FM, Santamarina MT, Navarrete I, Sanmartín ML. Antigenic cross-reactivity in mice between third stage larvae of *Anisakis simplex* and the other nematodes. *Parasitol Res* 1996; 82: 378-381.
49. Fernández Caldas E, Quirce S, Marañón F, Díez-Gómez ML, Gijón-Botella H, López-Roman R. Allergenic cross-reactivity between third stage larvae of *Hysterothylacium aduncum* and *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: 554-555.
50. Lorenzo S, Iglesias R, Paniagua E, Leiro J, Ubeira FM. Analysis of the antigenicity in mice of biotinyl enzymes from *Anisakis simplex* and other nematodes. *Parasitol Res* 1999; 85: 441-445.
51. Moneo I, Audicana MT, Alday E, Curiel G, del Pozo MD, García M. Periodate treatment of *Anisakis simplex* allergens. *Allergy* 1997; 52: 565-569.
52. Lorenzo S, Iglesias R, Leiro J, Ubeira FM. Usefulness of currently available methods for the diagnosis of *Anisakis simplex* allergy. *Allergy* 2000; 55: 627-633.
53. Valls A, Pascual CY, Pereira MJ, Belver MT, Daschner A, López-Serrano MC, Cuellar C, Martín Esteban M. Cross-reactivity of *Anisakis* full body allergen and the relationship with secretor-excretory allergen. *Allergy* 2002; 57(sup 73): 104. (Abstract).
54. Arenal JJ, Marcos JL, Borrego MH, Bowakin W, Castro J, Blanco JI. Anisakiasis como causa de apendicitis aguda y cuadro reumatológico: primer caso en la literatura médica. *Rev Esp Enf Digest* 1991; 79: 355-358.
55. Adroher FJ, Valero A, Ruiz-Valero J, Iglesias L. Larval anisakis (Nematoda: *Ascaridoidea*) in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) from the fish market in Granada, Spain. *Parasitol Res* 1996; 82: 319-22.
56. WHO 1989. Report of WHO Consultation on Public Health Aspects of Seafood-Borne Diseases. WHO/CDS/VPH/90.86.
57. Abollo E, Gestal C, Pascual S. *Anisakis* infestation in marine fish and cephalopods from Galician waters: an updated perspective. *Parasitol Res* 2001; 87:492-499.
58. Huss HH, Ababouch L, Gram L. Assessment and management of seafood safety and quality. FAO fisheries technical paper 444. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome 2003. Disponible en: http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/docrep/006/y4743e/y4743e00.htm
59. European Food Safety Authority. Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health - Allergic reactions to ingested *Anisakis simplex* antigens and evaluation of the possible risk to human health. 27 April 1998. Disponible en: http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out05_en.html
60. Jemmi T, Schmitt M, Rippen TE. Safe handling of seafood. In: Safe handling of foods. Farber JM, Todd EC, eds. New York: Marcel Dekker Inc, 2000: 105-165.
61. FDA. Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guide. 3rd edition. US Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood, Washington DC, USA, 2001. Disponible en: www.cfsan.fda.gov/~comm/haccpsea.html.

62. Anónimo. 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 25/06/2004, págs. 22-82.
63. Anónimo. Decisión de la Comisión, de 19.01.93, por la que se establecen las modalidades de control visual para detectar parásitos en los productos de la pesca. 93/140/CEE. DO L 056 de 09/03/1993, pág. 42.
64. ICMSF. Microorganisms in Foods 5. Microbiological Specifications of Food Pathogens. Blackie Academic & Professional. London, 1996.
65. Dong FM, Ton MN, Adams AM, MacKenzie AP, Wekell MM. Survival of *Anisakis simplex* in freeze-processed Arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*). Institute of Food Technologists. 2000 IFT Annual Meeting, June 10-14, Dallas, TX. Abstract #51A-35. Disponible en: http://ift.confex.com/ift/2000/techprogram/paper_4473.htm
66. Wharton DA, Aalders O. 2002. The response of *Anisakis* larvae to freezing. J Helminthol 2002; 76: 363-368.
67. Howgate, P. 1998. Review of the public health safety of products from aquaculture. Int J Food Sci Technology 1998; 33: 99-125.
68. FDA. Processing parameters needed to control pathogens in cold smoked fish. Potential hazards in cold-smoked fish: parasites. US Food and Drug Administration, 2001. Disponible en: <http://vm.cfsan.fda.gov/~comm/ift2para.html>
69. Molina-Garcia AD, Sanz PD. *Anisakis simplex* larva killed by high-hydrostatic-pressure processing. J Food Prot 2002; 65: 383-388.
70. Alonso-Gomez A, Moreno-Ancillo A, Lopez-Serrano MC, Suarez-de-Parga JM, Daschner A, Caballero MT, Barranco P, Cabanas R. *Anisakis simplex* only provokes allergic symptoms when the worm parasitises the gastrointestinal tract. Parasitol Res. 2004; 93:378-384.
71. Fernandez de Corres L, Audicana M, Del Pozo MD, Munoz D, Fernandez E, Navarro JA, Garcia M, Diez J. *Anisakis simplex* induces not only anisakiasis: report on 28 cases of allergy caused by this nematode. J Investig Allergol Clin Immunol 1996; 6:315-319.
72. Falcao H, Lunet N, Neves E, Barros H. Do only live larvae cause *Anisakis simplex* sensitization? Allergy. 2002 Jan;57(1):44.
73. Trujillo MJ, Rodriguez A, Gracia Bara MT, Matheu V, Herrero T, Rubio M, Zubeldia JM, Baeza ML. Dietary recommendations for patients allergic to *Anisakis simplex*. Allergol Immunopathol (Madr) 2002; 30:311-314.
74. Valls A, Pascual CY, Martín Esteban M, *Anisakis* y anisakiosis. Allergol Immunopathol (Madr) 2003; 31: 348-355.
75. USDA. Cooking safely in the microwave oven. Food Safety and Inspection Service, 2000. Disponible en: http://www.fsis.usda.gov/oa/pubs/fact_microwave.PDF