

**UNIVERSIDAD DE PANAMÁ  
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO  
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS PARASITOLÓGICAS  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA**

**Identificación y caracterización de parásitos de  
la Familia Anisakidae en cuatro especies de  
peces de valor comercial, ciudad de Panamá**

**Kedric Bosco González Serrano  
8-894-1370**

**Tesis presentada como uno de los requisitos para optar al  
grado de Maestría en Ciencias Parasitológicas**

**PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ  
2024**

**Claudia Rengifo**, Docente/Investigador de la Facultad de Medicina Veterinaria,  
Universidad de Panamá (FMV-UP)

CERTIFICA QUE: **Kedric Bosco González Serrano**

Ha realizado bajo su dirección el trabajo de investigación correspondiente a su Tesis de Maestría, con el título: **Identificación y caracterización de parásitos de la Familia Anisakidae en cuatro especies de peces de valor comercial, ciudad de Panamá.**

---

Revisado este trabajo, autorizan su presentación para ser juzgado, y para que así conste a los efectos oportunos, firman el presente certificado en Panamá el \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

## **Agradecimientos**

En la realización de este trabajo recibí el apoyo de muchas personas a las cuales deseo agradecer, en especial a la Dra. Claudia Rengifo, la Dra. Leyda Abrego y al Dr. Celestino Aguilar, quienes colaboraron directamente con el trabajo. A las personas que me apoyaron por fuera como Mark Torchin y Anindo Choudhury, sin los cuales no hubiese sido posible este trabajo y a mi familia, por su constante apoyo durante todo el desarrollo del trabajo; finalmente agradecer a la Secretaria Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (SENACYT) por el financiamiento brindado durante estos dos años de maestría.

## **Dedicatoria**

Este trabajo se lo dedico a mi familia, mis padres: Rigoberto González y Soledad Serrano, y a mi hermano Kenneth González.

De igual manera lo dedico a mis compañeros de Veterinaria La fe 1 y 2 quienes siempre han estado presentes en mis estudios y me han dado todo su apoyo y cariño, a Ilka Grajales, quien me ha acompañado en cada paso de este proyecto y finalmente en memoria del Dr. Richard Cooke quien me apoyo en el principio del trabajo de tesis con su guía y cariño.

## Índices

### Índice de contenido

<b>Resumen</b> .....	7
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	8
<b>Ciclo biológico</b> .....	9
<b>Anisakidosis</b> .....	10
<b>OBJETIVOS</b> .....	13
<b>Objetivos generales</b> .....	14
<b>Objetivos específicos</b> .....	14
<b>ANTECEDENTES</b> .....	15
<b>Anisakidos a nivel mundial</b> .....	16
<b>Asia</b> .....	16
<b>Europa</b> .....	17
<b>América</b> .....	19
<b>Colombia</b> .....	28
<b>Situación Actual en Panamá</b> .....	29
<b>MATERIALES</b> .....	30
<b>Y MÉTODOS</b> .....	30
<b>Área de estudio</b> .....	31
<b>Cálculo del tamaño de muestra, selección y colecta de peces</b> .....	31
<b>Toma de muestras de parásitos</b> .....	31
<b>Aclaramiento de los nematodos encontrados</b> .....	32
<b>Extracción de ADN</b> .....	32
<b>PCR del fragmento que codifica la Ciclooxygenasa II (Cox-II)</b> .....	33
<b>PCR del fragmento de la subunidad ribosomal pequeña (ssrRNA)</b> .....	34
<b>Purificación y Secuenciación de los productos de PCR</b> .....	34
• <b>Purificación de producto de PCR</b> .....	34
• <b>Preparación de mezcla para secuenciación</b> .....	34
• <b>Purificación del producto de secuenciación</b> .....	35
<b>Análisis de las secuencias y ensamblaje de los árboles filogenéticos</b> .....	35
<b>RESULTADOS</b> .....	37

<b>DISCUSIÓN</b> .....	44
<b>CONCLUSIÓN</b> .....	48
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	50
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	52

### Índice de Figuras.

<b>Figura 1.</b> Ciclo de vida generalizado de los nematodos de la Familia Anisakidae. ...	10
<b>Figura 2.</b> Países origen de los reportes en la Unión Europea con productos infectados con Anisakis spp. hasta el año 2019.....	18
<b>Figura 3.</b> Larva L3 del género Contracaecum con sus estructuras anatómicas craneales características.....	39
<b>Figura 4.</b> Larva L3 del género Contracaecum con sus estructuras anatómicas caudales características. ....	39
<b>Figura 5.</b> Estructuras anatómicas de los peces con presencia de larvas L3 del Género Contracaecum. A (cavidad celómica), B (musculatura) y C (vísceras). .....	40
<b>Figura 6.</b> Gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio con los productos de PCR región cox-II con una banda de entre 500 a 600 pares de bases, específicos para anisakidos.. .....	40
<b>Figura 7.</b> Gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio con los productos de PCR de la región ssrRNA con una banda entre 600 a 700 pares de bases, específicos para anisakidos.. .....	41
<b>Figura 8.</b> Relación filogenética circular entre secuencias de diferentes aislados de Contracaecum, del estudio y publicados, mediante el análisis de máxima probabilidad para el fragmento Cox-II. ....	42
<b>Figura 9.</b> Relación filogenética circular entre secuencias de diferentes aislados de Contracaecum, del estudio y publicados, mediante el análisis de máxima probabilidad para el fragmento ssrRNA. ....	43

### Índice de cuadros

<b>Cuadro 1.</b> Nomenclatura de la terminología establecida para la enfermedad con relación a sus agentes causales. ....	11
<b>Cuadro 2.</b> Sintomatologías reportadas a nivel mundial, causadas por diversos géneros de la Familia Anisakidae. ....	11
<b>Cuadro 3.</b> Especies reportadas con presencia de Anisakis spp. en la Unión Europea. ....	18
<b>Cuadro 4.</b> Especies de peces descritos como hospederos intermediarios, especies de anisakidos encontrados y su prevalencia en países de Sudamérica. ND= no definido. ....	20

## Resumen

Los nematodos de la Familia Anisakidae son nematodos parásitos obligados que, a nivel mundial, están asociados con cuadros gastrointestinales y alérgicos, al infectar personas de manera accidental, durante el consumo de carne cruda o preparaciones poco cocidas de los hospederos intermediarios, representando un serio problema de salud pública. El objetivo del presente estudio fue identificar y caracterizar los nematodos de la Familia Anisakidae, presentes en cuatro especies de peces que se comercializan en la ciudad de Panamá. Se analizaron un total de 60 peces de cuatro especies de valor comercial vendidos en el mercado de Mariscos, en los que se encontraron 152 nematodos del género *Contracaecum*, con una prevalencia global del 26 % (16/60), la especie *Mugil curema* con una prevalencia del 100 % (15/15), y *Centropomus armatus* con un 6% de prevalencia (1/15). Por medio del uso de la secuenciación de los productos de la PCR específicos para anisakidos, se logró la identificación de las especies *Contracaecum multipapillatum* y *Contracaecum jorgei*, constituyendo el primer reporte de estos parásitos en estos hospederos intermediarios en el pacifico de Panamá.

Palabras clave: *Contracaecum*, Anisakidae, *Mugil curema*, *Centropomus armatus*, Panamá.

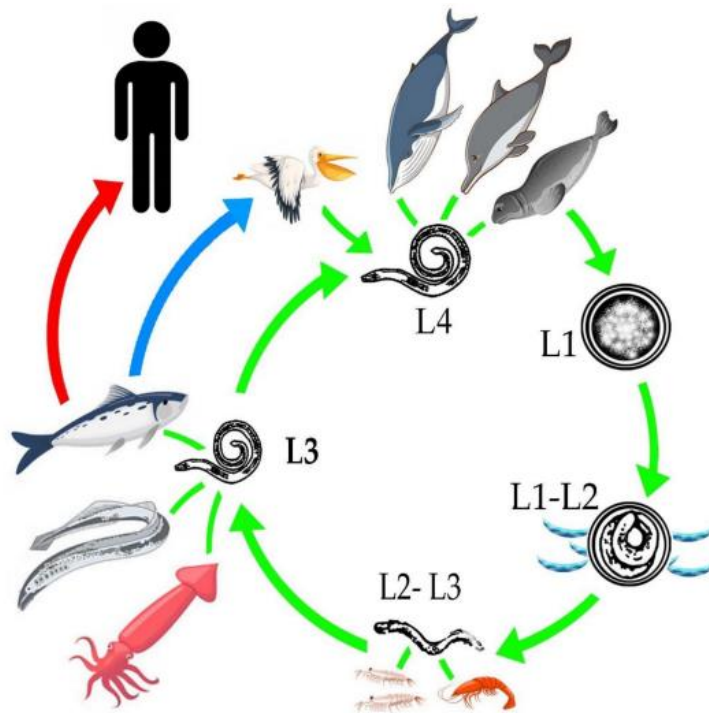
# **INTRODUCCIÓN**

## Ciclo biológico

Los nematodos de la familia Anisakidae son parásitos obligados cosmopolitas, cuya capacidad infectiva en diversos organismos acuáticos ha sido ampliamente demostrada (Castellanos-Garzón et al., 2020). El ciclo comienza cuando los huevos embrionados inmaduros son excretados en las heces de los hospederos definitivos, éstos maduran en el medio acuático a temperaturas entre 13°C y 18°C (Smith & Wootten, 1978). Ésto junto con otros factores como la salinidad y los niveles de oxígeno favorecen la eclosión de las primeras larvas conocidas como L1; posteriormente mudan al segundo estadio larval L2, las cuales se mezclarán en la columna de agua con el zooplancton, en espera a ser depredadas por peces o cefalópodos, en donde la larva L2 aumentará de tamaño y mudará, convirtiéndose en larva L3, que es el estadio infectivo.

La larva L3 tiene como meta infectar a los hospederos definitivos que, dependiendo de su género, abarcan tanto mamíferos acuáticos como aves piscívoras; incluyendo especies que, dentro de sus hábitos alimenticios consumen peces. Dentro de sus hospederos definitivos, las larvas infectivas L3 mudan a su estadio adulto, adhiriéndose a la mucosa del estómago y reproduciéndose, liberando huevos, logrando de esta manera perpetuar su ciclo de vida. Si las larvas infectivas L3 llegan a ser ingeridas por un depredador que no es su hospedero definitivo, este depredador se convierte en su hospedero paraténico, solapando dentro del eslabón de la cadena trófica.

Las larvas al entrar en contacto con la mucosa gastrointestinal, no se logran desarrollar dentro de este hospedero; en cambio, empezarán una migración, terminando en su enquistamiento en diversas estructuras dentro del hospedero paraténico, como: musculatura, vísceras o cavidad celómica. Este proceso se repetirá las veces que sea permitido, hasta lograr ser ingeridas por sus hospederos definitivos, por lo que esta baja especificidad de hospederos intermediarios y paraténicos ha contribuido al gran éxito del parásito, demostrado en la capacidad de adaptación de los miembros de la Familia Anisakidae (Ángeles-Hernández et al., 2020). El ciclo de vida se muestra en la figura 1.



**Figura 1.** Ciclo de vida generalizado de los nematodos de la Familia Anisakidae. Extraído de Ángeles-Hernández et al., 2020)

## Anisakidosis

La anisakidosis es la enfermedad generada por cualquiera de los nematodos miembros de la Familia Anisakidae. Para evitar confusiones con la terminología y el agente causal, se formuló una nomenclatura más apropiada para su uso en el entorno científico, la cual se encuentra descrita en el cuadro 1. La anisakidosis ha sido clasificada como una enfermedad desatendida (A. Akbar, 2005), principalmente por el desconocimiento por parte de las entidades de salud sobre su agente causal y la sintomatología que caracteriza su cuadro clínico, que suele ser inespecífica en muchos casos, pudiendo afectar a diversos sistemas (Castellanos-Garzón et al., 2020; Shamsi & Barton, 2023). Un resumen de la sintomatología descrita para esta enfermedad a nivel mundial, se detalla en el cuadro 2.

La principal fuente de infección para la anisakidosis es a través del consumo de la larva L3 enquistada en la musculatura de los hospederos intermediarios, en preparaciones crudas, semi cocidas, ahumadas o saladas (Ángeles-Hernández et al., 2020),

pudiendo afectar a personas de cualquiera edad, teniendo registros en infantes de 7 meses hasta adultos mayores de 83 años (Shamsi & Barton, 2023).

**Cuadro 1.** Nomenclatura de la terminología establecida para la enfermedad con relación a sus agentes causales.

<b>Agente Causal</b>	<b>Denominación de la Enfermedad</b>
Familia Anisakidae	Anisakidosis
Género <i>Anisakis</i>	Anisakiosis
Género <i>Pseudoterranova</i>	Pseudoterranovosis
Género <i>Contracaecum</i>	Contracaeciasis

Extraído de (Kassai et al., 1988).

**Cuadro 2.** Sintomatologías reportadas a nivel mundial, causadas por diversos géneros de la Familia Anisakidae.

<b>Sistema afectado</b>	<b>Manifestaciones clínicas y lesiones</b>
<b>Sistema Gastrointestinal</b>	Disfagia, edema de epiglotis, sensación de cuerpo extraño, sensación pegajosa en boca, dolor oral, quemadura de boca, angioedema de labio, gingivitis descamativa ulcerativa, lesión inflamatorio erosiva de los labios, sangrado de la mucosa gástrica, dolor gástrico o epigástrico, reflujo, náusea, anorexia, emesis, hematoemesis, pérdida o disminución del apetito, pérdida de peso, calambres abdominales e incomodidad, constipación, obstrucción intestinal, enteritis, sensación de llenura, flatulencias, intususcepción, prueba de

	sangre oculta en heces positiva, melena, hematequesis, sangrado abundante rectal.
<b>Sistema Respiratorio</b>	Disnea, sensación de asfixia, respiración irregular, dolor subesternal y retroesternal, sensación de cosquilleo en la faringe o garganta, dolor en la faringe o garganta, síntomas de garganta irritada (tos, silbidos, respiraciones más cortas y frecuentes)
<b>Sistema Nervioso Central</b>	Dolor de cabeza y pérdida de la conciencia
<b>Sistema Inmune</b>	Fiebre, sudoración excesiva, síntomas anafilácticos (mucosas eritematosas, eritema y edema, urticaria, prurito, pápulas secundarias a urticaria, shock anafiláctico o hipovolémico)
<b>Otros Signos inespecíficos</b>	Lesiones neoplásicas, artritis en las rodillas, codo y tobillo, masa inguinal de rápido crecimiento, dolor en la espalda baja, dolor en la entropierna, astenia, escalofríos, presión baja, hematoquecia, anemia, prurito facial, prurito en brazos, espalda o pecho, fisuras entre falanges o palmares, síndrome nefrótico.

Extraído de (Shamsi & Barton, 2023).

# **OBJETIVOS**

## **Objetivos generales**

- Determinar la presencia de parásitos de la Familia Anisakidae en peces de consumo local, capturados en el océano Pacífico panameño, comercializados en el mercado de Mariscos, ubicado en el distrito de Panamá, provincia de Panamá.

## **Objetivos específicos**

1. Identificar morfológica y molecularmente los parásitos de los géneros: *Anisakis*, *Pseudoterranova* y *Contracaecum*, encontrados en los peces muestreados.
2. Determinar la prevalencia de los anisakidos en las cuatro especies de peces estudiadas.

# **ANTECEDENTES**

## **Anisakidos a nivel mundial**

Los casos de anisakidosis han sido reportados en 34 países, los cinco encabezando la lista son: Japón, España, Corea del Sur, Italia y Estados Unidos; los cuales están ordenados en orden descendente de acuerdo al número de casos (Shamsi & Barton, 2023). Esta estadística, sumado al aumento de reportes de casos en diversos continentes desde 1995 (Shamsi & Barton, 2023), ha incentivado el desarrollo de una serie de estudios para conocer la taxonomía y filogenia de los anisakidos, logrando así entender su potencial zoonótico y su capacidad de afectar a la población humana (D'Amelio et al., 2020).

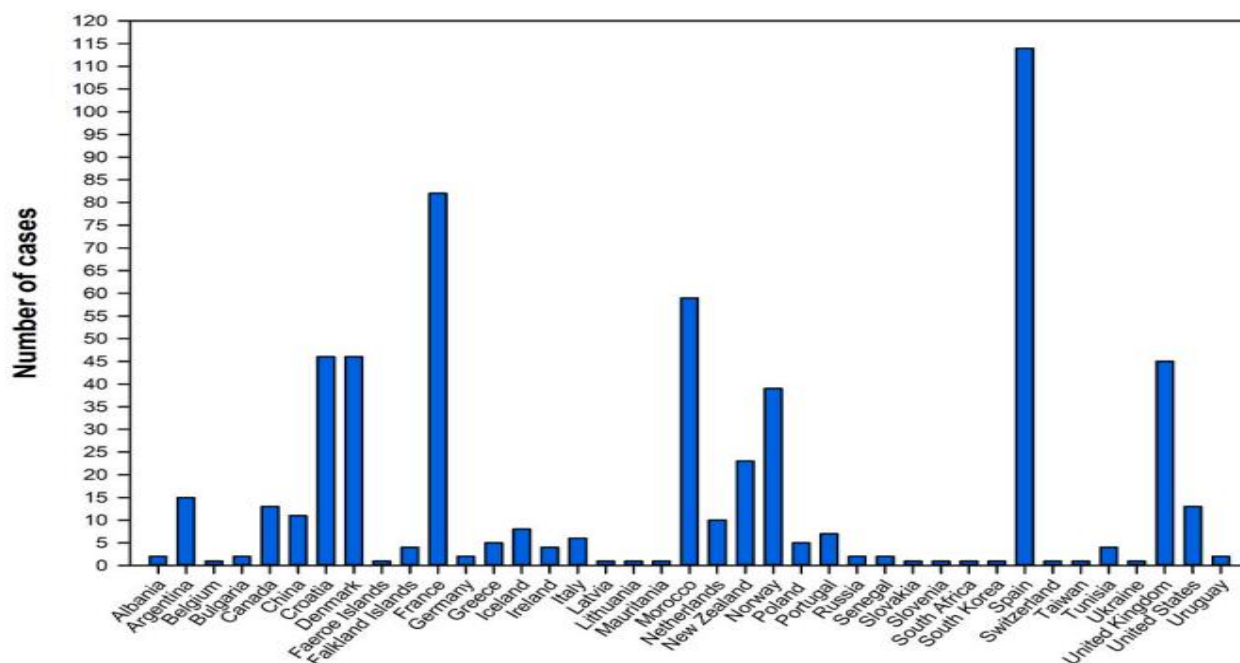
## **Asia**

Japón es el país con mayor número de reportes de anisakidosis a nivel mundial, donde anteriormente se estimaba que había un total de 2 500 de casos nuevos por año (ASFFA 2011); sin embargo, debido a los programas de salud existentes, públicos y privados, que incentivan la prevención y detección temprana de neoplasias, principalmente cervicales, gastrointestinales y respiratorias, este número ha aumentado exponencialmente en los últimos años, llegando a un reporte de 19 737 casos en un solo año (Sugiyama et al., 2022). Con relación a los demás países asiáticos, a pesar de reportarse peces con alta carga de anisakidos y existir la costumbre de consumo de peces crudos, no tienen cifras tan altas de casos en humanos (Shamsi & Barton, 2023). En este sentido, algunos autores reportan que pueden existir otros factores, que podrían ser desconocidos, y que pueden estar implicados en su transmisión al ser humano (Choi et al., 2017). En este sentido, podría considerarse que parte del aumento en los reportes de casos, como es el caso de Japón, puede deberse al conocimiento de la enfermedad sobretudo por parte del personal médico, además de la concientización de la población sobre esta problemática sanitaria, situación que no se ve en los demás países de la región (Shamsi & Barton, 2023).

## Europa

Este continente cuenta con una base de datos, originado de un sistema de alerta rápida para enfermedades de origen alimentario (RASFF por sus siglas en inglés: Rapid Alert System for Food and Feed) (Caldeira et al., 2021). Por medio de este sistema, se ha podido registrar los casos de alertas por alimentos con presencia de larvas de *Anisakis spp.* reportados y sus países de origen (Figura 2), permitiendo así mantener la trazabilidad de los casos registrados y registrar las medidas de control establecidas (Caldeira et al., 2021).

Este continente ha demostrado un particular interés por los parásitos del género *Anisakis spp.*, siendo éste el causante de los cuadros graves de la enfermedad encontrado en la mayoría de los casos, logrando generar pérdidas económicas por descarte de productos pesqueros infectados, motivados por sus efectos negativos en la salud pública (Adroher-Auroux & Benítez-Rodríguez, 2020; D'Amelio et al., 2020; Caldeira et al., 2021). Gracias a los resultados de los estudios realizados, se han identificado las especies de peces que con mayor frecuencia están asociadas a la presencia de larvas de *Anisakis spp.* y el registro de los casos reportados, las cuales se encuentran reflejadas en el cuadro 3.



**Figura 2.** Países donde provienen los productos marinos infectados con *Anisakis* spp. reportados en la Unión Europea hasta el año 2019. Extraído de (Caldeira et al., 2021).

**Cuadro 3.** Especies reportadas con presencia de *Anisakis* spp. en la Unión Europea.

Peces infectados	Reportes contabilizados
Macarela (Familia Scombridae)	123
Merluza (Orden Gadiformes)	106
Pez linternas (Orden Lophiiformes)	94
Anchoas (Género Clupeiformes)	29
Bacalao (Género Gadus)	24
Cinto ( <i>Lepidopus caudatus</i> )	21
Sin determinar	18
Pez de San Pedro (Familia Zeidae)	10
Pez espada (Familia Xiphiidae)	9
Chicharro (Familia Carangidae)	8
Salmónidos (Familia Salmonidae)	6
Pez rojo (Género <i>Sebastes</i> )	6

Pez soldado (Familia Triglidae)	6
Arenque (Familia Clupeidae)	5
Bacaladilla ( <i>Micromesistius poutassou</i> )	3
Lubina Argentina ( <i>Acanthistius brasilianus</i> )	2
Brosmio (Familia Lotidae)	2

Extraído de (Caldeira et al., 2021).

## América

En el continente americano, la anisakidosis es considerada una enfermedad subdiagnosticada y algunos autores atribuyen ésto a factores como la falta de su inclusión dentro de los diagnósticos diferenciales en pacientes con dolor abdominal o patología visceral y con historial de consumo de carne de peces cruda (A. Akbar, 2005; Shamsi & Barton, 2023) . Otro factor considerado es la pericia de los preparadores de platillos orientales como el sushi o el sashimi, quienes pueden no tener experticia para eliminar los parásitos enquistados, a diferencia de los países asiáticos, donde los preparadores de alimentos muchas veces son los responsables de eliminar los parásitos antes de consumir el producto cárnico. Igualmente, la manera de preservar los alimentos es un elemento que hay que tomar en cuenta, ya que si no ha sido correcta, puede deteriorarse y causar enfermedad al ser consumido (A. Akbar, 2005).

En Estados Unidos, para el año 2011, se estimaba que se presentaban aproximadamente 10 casos nuevos por año (ASFFA 2011); sin embargo, estudios recientes se oponen a este argumento y concluyen que si se aplicaran las mismas políticas que en Japón, y tanto la ciudadanía como el personal médico estuviesen más anuentes de la problemática sanitaria que representa, habría un incremento considerable en los reportes nuevos anuales (Shamsi & Barton, 2023). Otros países de la región, como México, Perú y Chile reportan varios estudios demostrando la presencia de anisakidos en peces; y esto se debe principalmente a la preocupación por parte de la comunidad científica, ya que en estos países hay una cultura culinaria de comer pescado crudo, principalmente en la preparación del ceviche. En Chile, se

ha demostrado que la preparación del ceviche permite que las larvas se mantengan viables, constituyendo un peligro para los seres humanos (Torres-Frenzel & Torres, 2014). En América del Sur, las especies de peces en las que se ha reportado la presencia y su prevalencia se encuentran en el cuadro 4.

**Cuadro 4.** Especies de peces descritos como hospederos intermediarios, las especies de anisakidos encontradas y su prevalencia en Sudamérica.

<b>Especie</b>	<b>País</b>	<b>Parásito reportado</b>	<b>Prevalencia reportada (%)</b>
<b><i>Acanthisius patachonicus</i></b>	Argentina	<i>Pseudoterranova cattani</i>	25
		Pseudoterranova sp.	42.2
<b><i>Ageneiosus caucanus</i></b>	Colombia	Contracaecum sp.	23.3
<b><i>Aluterus monoceros</i></b>	Brasil	<i>Anisakis sp.</i>	1
		Contracoecum sp.	16
<b><i>Aphos porosus</i></b>	Chile	<i>Anisakis simplex</i>	13
		<i>Pseudoterranova decipiens</i>	75
<b><i>Arapaima gigas</i></b>	Brasil	Hysterothylacium sp.	98
<b><i>Austromeniidia laticlavian</i></b>	Chile	Contracaecum sp.	10
<b><i>Astyanax eigenmanniorum</i></b>	Argentina	Contracaecum sp.	100
<b><i>Auxis rochei</i></b>	Ecuador	<i>Anisakis physeteris</i>	50
<b><i>Auxis thazard</i></b>	Brasil	<i>Anisakis physeteris</i>	ND
		<i>Anisakis typica</i>	ND
<b><i>Caquetaia kraussii</i></b>	Colombia	Contracaecum sp.	95
<b><i>Caranx hipos</i></b>	Brasil	Contracaecum sp.	3.3
	Colombia	Familia Anisakidae	8.5
	Brasil	Pseudoterranova sp.	6.7
<b><i>Caranx latus</i></b>	Brasil	Anisakis sp.	1.8
		Contracaecum sp.	18.2

		Hysterothylacium sp.	3.6
		Pseudoterranova sp	32.7
<b><i>Carcharhinus brachyurus</i></b>	Brasil	Contracaecum sp.	2.5
<b><i>Carcharhinus signatus</i></b>	Brasil	Anisakis sp.	60
		Contracaecum sp.	40
<b><i>Cauque mauleanum</i></b>	Chile	<i>Anisakis simplex</i>	22
		<i>Hysterothylacium geschei</i>	78.9
<b><i>Centropomus armatus</i></b>	Colombia	<i>Anisakis physeteris</i>	42
<b><i>Centropomus undecimalis</i></b>	Colombia	Familia Anisakidae	4.3
<b><i>Coryphaena hippurus</i></b>	Ecuador	<i>Anisakis physeteris</i>	30
	Perú	<i>Anisakis physeteris</i>	58.33
		<i>Anisakis physeteris</i>	7
		Hysterothylacium sp.	4
<b><i>Cottoperca gobio</i></b>	Argentina	Pseudoterranova sp.	12.5
<b><i>Cynoscion spp.</i></b>	Brasil	Anisakis sp.	30.76
		Contracaecum sp.	67.3
		Pseudoterranova sp.	3.84
<b><i>Dipturus trachyderma</i></b>	Brasil	Anisakis sp.	25
		Contracaecum sp.	62.5
<b><i>Engraulis anchoíta</i></b>	Argentina	<i>Anisakis simplex</i>	5.85
	Uruguay		
	Argentina	Contracaecum sp.	39.7
	Uruguay		
	Argentina	Pseudoterranova sp.	0.34

	Uruguay		
<b><i>Engraulis ringens</i></b>	Chile	Anisakis sp.	3
<b><i>Eugerres plumieri</i></b>	Venezuela	Contraecaecum spp.	97
		Pseudoterranova spp.	3
<b><i>Gadus sp.</i></b>	Brasil	<i>Pseudoterranova azarasi</i>	ND
<b><i>Gadus macrocephalus</i></b>	Brasil	Familia Anisakidae	64
<b><i>Galoeorhinus vitaminicus</i></b>	Brasil	Anisakis sp.	8.1
		Contraecaecum sp.	5.4
		Pseudoterranova sp.	5.4
<b><i>Genypterus blacodes</i></b>	Argentina	Pseudoterranova sp.	2.3
	Chile	Anisakis sp. (Type I)	7.4
		Anisakis sp. (Type II)	4.9
		Pseudoterranova spp.	53.1
<b><i>Genypterus brasiliensis</i></b>	Brasil	<i>Anisakis typica</i>	1.7
		<i>Hysterothylacium deardorffoverstreetorum (s.l)</i>	5
<b><i>Genypterus chilensis</i></b>	Chile	<i>Pseudoterranova decipiens</i>	50
<b><i>Heptranchias perlo</i></b>	Brasil	Anisakis sp.	14.3
		Contraecaecum sp.	28.6
<b><i>Hexanchus griseus</i></b>	Brasil	Anisakis sp.	100
		Contraecaecum sp.	100
<b><i>Hexanematichthys sp.</i></b>	Ecuador	Contraecaecum sp.	12.5
<b><i>Hoplias malabaricus</i></b>	Argentina	Contraecaecum sp.	70
	Colombia	Contraecaecum sp.	100
		Contraecaecum spp.	93.3
		Contraecaecum spp.	100

<b><i>Hoplias microlepis</i></b>	Ecuador	Contraecaecum sp.	25
<b><i>Katsuwonus pelamis</i></b>	Ecuador	<i>Anisakis physeteris</i>	31
<b><i>Larimus argenteus</i></b>	Colombia	<i>Anisakis physeteris</i>	100
<b><i>Lophius gastrophysus</i></b>	Brasil	<i>Anisakis simplex</i>	1.14
		Hysterothylacium sp.	12.6
<b><i>Macruronus magellanicus</i></b>	Chile	<i>Anisakis physeteris</i>	33
		<i>Anisakis simplex</i>	100
		Hysterothylacium sp.	1
			33
		<i>Pseudoterranova decipiens</i>	25
33			
<b><i>Merluccius australis</i></b>	Chile	<i>Anisakis</i> sp. (Type I)	8.7
		<i>Pseudoterranova</i> spp.	4.8
			21.8
<b><i>Merluccius gayi</i></b>	Ecuador	<i>Anisakis pegreffii</i>	92
		<i>Anisakis physeteris</i>	92
	Chile	<i>Anisakis simplex</i>	5.9
	Colombia	Familia Anisakidae	26.19
	Chile	<i>Pseudoterranova decipiens</i>	23.5
<b><i>Merluccius hubbsi</i></b>	Argentina	<i>Pseudoterranova</i> sp.	3.8
<b><i>Micropogonias furnieri</i></b>	Venezuela	Contraecaecum sp. (s. l)	0.7

	Brasil	<i>Hysterothylacium deardorffoverstreetorum</i> (s.l)	3.3
<b><i>Mola mola</i></b>	Chile	Anisakis sp.	100
<b><i>Mugil cephalus</i></b>	Colombia	<i>Anisakis physeteris</i>	33
	Perú	<i>Anisakis simplex</i>	ND
	Colombia	Anisakis sp.	33
	Ecuador	Contracaecum sp.	14
	Comolbia	Familia Anisakidae	100
<b><i>Mugil curema</i></b>	Colombia	<i>Anisakis physeteris</i>	94
	Venezuela	Anisakis spp.	47.16
		Contracaecum spp.	12.74
			97
	Pseudoterranova spp.	40.1	
Colombia	<i>Pseudoterranova decipiens</i>	94	
<b><i>Mugil incilis</i></b>	Colombia	Contracaecum spp.	100
		Pseudoterranova spp.	80.5
		Familia Anisakidae	83.9
		Familia Anisakidae	64.51
<b><i>Mugil liza</i></b>	Venezuela	Anisakis spp.	5.61
		Contracaecum spp.	84.39
			97
		Pseudoterranova spp.	10
3			
<b><i>Mugil spp.</i></b>	Colombia	Familia Anisakidae	100
<b><i>Mullus argentinae</i></b>	Argentina	<i>Hysterothylacium dearddorffoverstreetorum</i> (s.l)	48.3
		Pseudoterranova sp.	100
<b><i>Mustelus canis</i></b>	Brasil	Anisakis sp.	5.4
		Contracaecum sp.	2.7

		Pseudoterranova sp.	10.8
<b><i>Mustelus schmitti</i></b>	Brasil	Contracaecum sp.	5.7
		Pseudoterranova sp.	2.9
<b><i>Nemadactylus bergi</i></b>	Argentina	Pseudoterranova sp.	3.1
<b><i>Odontesthes bonariensis</i></b>	Argentina	Contracaecum sp.	5
<b><i>Oligosarcus jenynsii</i></b>	Argentina	Contracaecum sp.	54
<b><i>Oreochromis niloticus</i></b>	Ecuador	Contracaecum sp.	14.06
<b><i>Pagrus pagrus</i></b>	Argentina	<i>Anisakis simplex</i>	23.8
	Brasil	<i>Anisakis simplex (s.l)</i>	85.13
		Anisakis sp.	5.56
			40
			7.7
		Contracaecum sp.	5.3
			8.33
	3		
	Argentina	Hysterothylacium sp.	100
	Brasil	Hysterothylacium sp.	13.89
			90
			93.3
			4.05
			Pseudoterranova sp.
<b><i>Paralichthys isosceles</i></b>	Argentina	<i>Pseudoterranova cattani</i>	26.7
	Brasil	<i>Hysterothylacium deardorffoverstreetorum sp. nov.</i>	ND
<b><i>Paralichthys microps</i></b>	Chile	<i>Anisakis simplex</i>	10
		<i>Pseudoterranova decipiens</i>	70
<b><i>Pellona castelnaeana</i></b>	Brasil	Familia Anisakidae	100
	Argentina	<i>Anisakis simplex</i>	5.08
	Uruguay		

<b><i>Percophis brasiliensis</i></b>	Brasil	Anisakis sp.	14.6
	Argentina	Contraeaecum sp.	5.08
	Uruguay		
	Brasil	Contraeaecum sp.	6.74
		<i>Hysterothylacium aducum</i>	0.56
		<i>Hysterothylacium fortalezae</i>	2.8
	Argentina	Hysterothylacium sp.	74.01
	Uruguay		
	Brasil	Hysterothylacium sp.	97.19
Argentina	<i>Pseudoterranova cattani</i>	25	
<b><i>Pimelodus albicans</i></b>	Argentina	Contraeaecum sp.	100
<b><i>Pinguipes brasilianus</i></b>	Brasil	Hysterothylacium sp.	100
<b><i>Plagioscion magdalenae</i></b>	Colombia	Contraeaecum sp.	46.7
<b><i>Plagioscion squamosissimus</i></b>	Brasil	Familia Anisakidae	100
<b><i>Paralanchurus peruano</i></b>	Perú	<i>Anisakis simplex</i>	ND
<b><i>Priacanthus arenatus</i></b>	Brasil	Anisakis sp.	20
		<i>Hysterothylacium deardorffoverstreetorum</i>	66.7
<b><i>Prionotus nudigula</i></b>	Argentina	<i>Pseudoterranova cattani</i>	100
<b><i>Prionotus punctatus</i></b>	Brasil	Anisakis sp.	17.5
		Hysterothylacium sp.	97.5
<b><i>Pseudopercis númida</i></b>	Brasil	<i>Anisakis typica</i>	4
		Hysterothylacium sp.	88
<b><i>Pseudopercis semifasciata</i></b>	Argentina	<i>Anisakis simplex</i>	45
		Contraeaecum sp.	26
		<i>Hysterothylacium aducum</i>	43
		Hysterothylacium sp.	79

		Pseudoterranova sp.	35
			25.8
<b><i>Pseudoplatystoma magdaleniatum</i></b>	Colombia	Contraecaecum sp.	95
<b><i>Rhamdia quelen</i></b>	Argentina	Contraecaecum sp.	100
<b><i>Salminus affinis</i></b>	Colombia	Contraecaecum sp.	95
<b><i>Salminus maxillosus</i></b>	Argentina	Contraecaecum sp.	80
<b><i>Sarda chiliensis</i></b>	Perú	<i>Anisakis physeteris</i>	ND
<b><i>Sciades herzbergii</i></b>	Colombia	Familia Anisakidae	1.6
<b><i>Sciaena deliciosa</i></b>	Perú	<i>Anisakis simplex</i>	ND
<b><i>Scomber japonicus</i></b>	Perú	<i>Anisakis physeteris</i>	ND
		<i>Anisakis simplex</i>	ND
		<i>Pseudoterranova decipiens</i>	ND
	Argentina	Pseudoterranova sp.	7.7
<b><i>Scyliorhinus haeckelii</i></b>	Brasil	Contraecaecum sp.	22.2
<b><i>Sebastes capensis</i></b>	Chile	<i>Anisakis simplex</i>	36.3
		<i>Pseudoterranova decipiens</i>	14.6
<b><i>Serrasalmus spilopleura</i></b>	Argentina	Contraecaecum sp.	91.98
<b><i>Sorubim cuspicaudus</i></b>	Colombia	Contraecaecum sp.	100
<b><i>Sphyrna zygaena</i></b>	Brasil	Contraecaecum sp.	12.5
<b><i>Squalus megalops</i></b>	Brasil	Anisakis sp.	7.1
		Pseudoterranova sp.	14.3
<b><i>Squatina sp.</i></b>	Brasil	Anisakis sp.	3.8
<b><i>Thunnus thynnus</i></b>	Brasil	<i>Anisakis typica</i>	ND
<b><i>Thyrsites atun</i></b>	Chile	Anisakis sp.	ND
		Anisakis sp. (Type I)	7.4
		<i>Pseudoterranova spp.</i>	5.3

<b><i>Trachurus murphy</i></b>	Perú	<i>Anisakis physeteris</i>	ND
	Chile	<i>Anisakis physeteris</i>	6.1
	Perú	<i>Anisakis simplex</i>	ND
	Chile	<i>Anisakis simplex</i>	12.5
		<i>Anisakis simplex</i>	36.9
	Perú	<i>Anisakis simplex</i>	1.8
	Chile	<i>Hysterothylacium</i> sp.	7.3
	Perú	<i>Pseudoterranova decipiens</i>	ND
	Chile	<i>Pseudoterranova decipiens</i>	31.3
<i>Pseudoterranova decipiens</i>		0.045	
<b><i>Trichiurus lepturus</i></b>	Brasil	<i>Anisakis typica</i>	57
<b><i>Xystreurys rasile</i></b>	Argentina	<i>Pseudoterranova</i> sp.	3.4

ND= no definido.

Extraído de (Falla-Zuñiga et al., 2021).

## Colombia

En Colombia, se han realizado estudios sobre este tema en los últimos años, permitiendo la descripción de 17 especies de peces de interés comercial parasitados por anisakidos; principalmente con los géneros *Anisakis*, *Pseudoterranova* y *Contracaecum*, tanto en peces de agua salada como de agua dulce (Castellanos-Garzón et al., 2020). Desde la perspectiva de salud pública, también se han realizado estudios, como el realizado en 2018, el cual reveló que de 150 muestras de suero de personas de la ciudad de Cali, el 1.3% presentaron anticuerpos contra antígenos específicos de *Anisakis simplex* (Castellanos Garzón., 2018). En el 2019, otro estudio reportó un caso de anisakidosis en una mujer, siendo el primer reporte de parasitismo humano por *Anisakis simplex* en Colombia (Patiño & Olivera, 2019).

## **Situación Actual en Panamá**

En Panamá, el sector pesquero representa una parte importante de la economía del país, siendo el segundo rubro de exportación más grande, con 73 millones de dólares para el año 2018. En el 2016, se reportó un total de 144 450 toneladas de peces capturados, siendo además el sector económico que emplea a 39 872 personas que se dedican directamente a la pesca de agua salada, teniendo un mayor auge en el Pacífico panameño (FAO, 2018). Sobre este punto, podemos decir que el consumo de peces marinos por persona en Panamá es de 10 a 14 kg por año, siendo uno de los más altos en Centroamérica (FAO, 2018). Esto sugiere la influencia cultural de la pesca y los productos de origen marino en la dieta panameña. A pesar de esto, en Panamá no se han desarrollado muchas investigaciones sobre parásitos que afecten la fauna marina, específicamente de la Familia Anisakidae, que afectan a especies de interés comercial. La única investigación que precede a este trabajo de tesis, fue desarrollada en el año 2023, donde se buscó en peces de la Familia Lutjanidae, sin encontrarse parásitos de esta familia (Borrero. A, 2023), por lo que urge la necesidad de realizar más investigaciones en Panamá, que permita determinar las especies de anisakidos presentes en nuestro país, con miras a poder establecer medidas para prevenir la anisakidosis en la población panameña.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

## Área de estudio

El área de estudio fue el mercado de Mariscos, un centro comercial perteneciente al Municipio de Panamá, ubicado en la ciudad de Panamá, cuyas coordenadas geográficas son 8°57'32.6"N 79°32'13.6"W. En este lugar se realiza la compra y venta de productos y subproductos provenientes de las actividades pesqueras realizadas en la capital del país, que bordea con el pacífico.

## Cálculo del tamaño de muestra, selección y colecta de peces

Para determinar el estimado del tamaño de muestra referido para cada especie de pez se utilizó la siguiente formula:

$$\text{Tamaño de muestra} = \frac{(Z^2 * p * q)}{d^2}$$

donde:

Z<sup>2</sup>: Nivel de confianza al cuadrado

p: Promedio de la prevalencia de parasitosis en cada especie de pez que se va a muestrear. Información extraída de: Falla-Zuñiga et al., 2021.

q: proporción de la población de referencia que no representa el fenómeno en estudio (1-p)

d<sup>2</sup>: nivel de precisión absoluta.

En total, se recolectaron 15 individuos de las especies *Lutjanus colorado* (Pargo Rojo), *Cynoscion stolzmanni* (Corvina) y *Centropomus armatus* (Robalo). Estas especies de peces fueron seleccionadas tomando como base la información proporcionada por la administración del mercado del marisco, que enlistaba aquellas especies de mayor venta en el local. Sumado a estas tres especies, se incluyó la *Mugil curema* (lisa del pacífico), especie que se ha descrito con una alta prevalencia de anisakidos a nivel mundial (Castellanos et al., 2020 y Rahmati et al., 2020).

## Toma de muestras de parásitos

Los peces fueron eviscerados y las vísceras separadas y examinadas individualmente, posteriormente se filetearon ambos lados del pez, en búsqueda de parásitos en

musculatura, examinándose finalmente la cavidad celómica (Klimpel et al., 2019). Todos los parásitos encontrados fueron separados tomando como referencia las diferencias macroscópicas, para ser almacenados en tubos cónicos de 1.5 ml con etanol al 95%.

### **Aclaramiento de los nematodos encontrados**

Los nematodos encontrados fueron seccionados en tres porciones de igual tamaño. La sección de la cola y la cabeza se utilizaron para la identificación morfológica, y la sección central preservada en etanol al 95% para la realización de las pruebas moleculares.

Para la identificación morfológica, las secciones se aclararon con glicerina y etanol, dejándose evaporar por 24 horas siguiendo el protocolo de Seinhorst (1962). Posteriormente, se observaron en un microscopio óptico (marca Amscope modelo MD827S30L con cámara digital integrada de 3 megapíxeles) las estructuras internas y externas, utilizando como referencia las claves dicotómicas presentadas por Fagerholm (1990).

### **Extracción de ADN**

Se realizó la extracción de ADN a partir de la sección conservada en etanol al 95% utilizando el QIAamp DNA mini kit, siguiendo el protocolo indicado de la siguiente manera:

- Se retiró el etanol de las muestras y se procedió a lavar tres veces con agua destilada, posteriormente se retiró el agua destilada y se dejó la porción media del nematodo en el tubo cónico de 1,5 ml.
- Se añadieron 20 microlitros ( $\mu$ l) de proteinasa K, se mezcló utilizando vortex marca Applied biosystems y se incubó a 56°C hasta la lisis del tejido. Posteriormente se mezcló en vortex por 15 segundos.
- Se añadieron 200  $\mu$ l de buffer AL y se mezcló en vortex
- Se añadieron 200  $\mu$ l de etanol y se mezcló en vortex

- Se extrajo la mezcla utilizando una pipeta y se colocó en un DNAeasy micro spin column, colocado en un tubo de colecta de 2 ml  
Se centrifugó a 6 000 X g (8 000 rpm) por un minuto.  
Se descartó todo el flujo excedente y el tubo de colecta.
- Se colocó el DNAeasy micro spin column en un nuevo tubo de 2 ml de colecta  
Se añadieron 500 µl de buffer AW1  
Se centrifugó a 6 000 g (8 000 rpm) por 1 minuto  
Se descartó el tubo de colecta y su contenido.
- Se colocó el DNAeasy micro spin column en un nuevo tubo de colecta de 2 ml  
Se añadieron 500 µl de buffer AW2  
Se centrifugó por 3 minutos a 20 000 g (14 000 rpm)  
Se descartó el tubo de colecta y su contenido.
- Se colocó el DNAeasy micro spin column en un tubo cónico de micro centrifuga de 1,5 a 2 ml
- Se añadieron 200 µl de agua grado molecular libre de ADNasas y ARNasas al tubo cónico de micro centrifuga de 1,5 a 2 ml previamente rotulado con el número de muestra correspondiente.
- Se centrifugó a 6 000 g (8 000 rpm) por 2 minutos.

El contenido final fue rotulado y almacenado en un congelador a -80°C para su posterior análisis.

### **PCR del fragmento que codifica la Ciclooxygenasa II (Cox-II)**

Se utilizó el protocolo descrito por Nadler & Hudspeth (2000), con cebadores primordiales 211 (*forward*; 5'- TTTTCTAGTTATATAGATTGRTT TYAT-3') y 210 (*reverse*; 5'- CACCAACTCTTAAAATTATC-3'), utilizando 5 µl de ADN, cada cebador a una concentración de 10 µmol y un volumen de 1 µl. Se agregó 12.5 µl de Taq PCR Master Mix Kit (Qiagen) y finalmente 5.5 µl de agua grado molecular libre de ADNasas y ARNasas para obtener un volumen total de 25 µl. Se utilizó el termociclador

SimpliAmp (Applied biosystems by life thecnologies) y el ciclo utilizado fue el siguiente: Predesnaturalización a 94°C por 4 minutos, 25 ciclos para la desnaturalización a 94°C por 30 segundos, alineamiento a 45°C por 30 segundos y extensión a 72°C por 50 segundos, con una extensión final de 72°C por 5 minutos.

### **PCR del fragmento de la subunidad ribosomal pequeña (ssrRNA)**

Se utilizó el protocolo descrito por D'amelio et al. (2007), con cebadores primordiales MH3 (forward 5'-TTG TTC CAG AAT AAT CGG CTA GAC TT-3') y MH4.5 (reverse 5'-TCT ACT TTA CTA CAA CTT ACT CC-3'), utilizando 4 µl de ADN, cada cebador a una concentración de 10 µmol y un volumen de 1 µl. Se agregó 12.5 µl de Taq PCR Master Mix Kit (Qiagen) y finalmente 6.5 µl de agua grado molecular libre de ADNAsas y ARNAsas para obtener un volumen total de 25 µl. Se utilizó el termociclador SimpliAmp (Applied biosystems by life thecnologies) y el ciclo utilizado fue el siguiente: Predesnaturalización a 95°C por 10 minutos, 35 ciclos para la desnaturalización a 95°C por 30 segundos, alineamiento a 55°C por 30 segundos y extensión a 72°C por 60 segundos, y una extensión final de 72°C por 10 minutos.

### **Purificación y Secuenciación de los productos de PCR**

- **Purificación de producto de PCR**

Se utilizó la enzima Exosap IT (Thermo Fisher Scientific), agregando 2 µl de enzima y 5 µl de producto de PCR. Posterior, se utilizó el termociclador SimpliAmp (Applied biosystems by life thecnologies), en un solo ciclo a 34°C por 4 minutos y posteriormente 80°C por un minuto.

- **Preparación de mezcla para secuenciación**

Se preparó la mezcla de la reacción para secuenciación con el Big Dye terminator Cycle Sequencing kit (Thermo Fisher Scientific), utilizando 3.5 µl de agua grado molecular libre de ADNAsas y ARNAsas, 3.5 µl de Sequencing Buffer, 1 µl de BigDye terminator y 1 µl de cada cebador utilizado (forward y reverse) dando un volumen de 9 µl, agregando 1 µl de producto de PCR purificado, para obtener como volumen final

10 µl por pocillo. La secuenciación se realizó en un plato de 96 pocillos, colocándose en el termociclador SimpliAmp (Applied biosystems by life technologies) utilizando el siguiente ciclo: 96°C por 3 minutos, 45 ciclos de 96°C por 10 segundos, 53°C por 15 segundos y 60°C por 4 minutos para finalmente mantenerse a 4°C hasta su purificación.

- **Purificación del producto de secuenciación**

Para la purificación del producto de secuenciación se utilizó el Bigdye Xterminator Purification Kit, para el cual se preparó una mezcla de 45 µl de solución SAM TM solution y 10 µl de Bigdye Xterminator Solution, agregándose a los 10 µl de cada pocillo, dando como volumen final 65 µl por pocillo en el plato de secuenciación. Posterior a esto, el plato se colocó en un vortex y se mezcló por 30 minutos, para finalmente centrifugarse a 1 000 x g por 2 minutos para después ser colocada en el secuenciador.

### **Análisis de las secuencias y ensamblaje de los árboles filogenéticos**

Para el análisis de las secuencias obtenidas se utilizó el programa Sequencher versión 4.1.4. Las secuencias ya editadas, se analizaron utilizando la herramienta digital Blast (NCBI). De la base de datos del NCBI, se obtuvieron las secuencias referencias para la creación del árbol filogenético.

Los análisis filogenéticos de las secuencias con los fragmentos Cox-II y ssrRNA implicaron una alineación inicial utilizando MAFFT version 1.5.0 (Kato & Standley, 2013). Posteriormente, los alineamientos se visualizaron y analizaron utilizando Geneious Prime 2024.0.1 (Kearse et al., 2012). Los árboles de máxima probabilidad (Maximum likelihood) y los modelos de sustitución de nucleótidos se elaboraron utilizando IQ-TREE2 version 2.2.2.6 (Minh et al., 2020). Los modelos de sustitución de nucleótidos seleccionados con ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017), implementado en IQ-TREE2, fueron UNREST+FO+I+G4 y TPM2u+F+I+G4, respetivamente. El soporte de los nodos se evaluó utilizando las opción -B 10 000 ultra

fast bootstraps (Hoang et al., 2018). Finalmente, para la visualización y anotación de árboles filogenéticos, se utilizó Geneious Prime y iTOL v6 (Letunic & Bork, 2019).

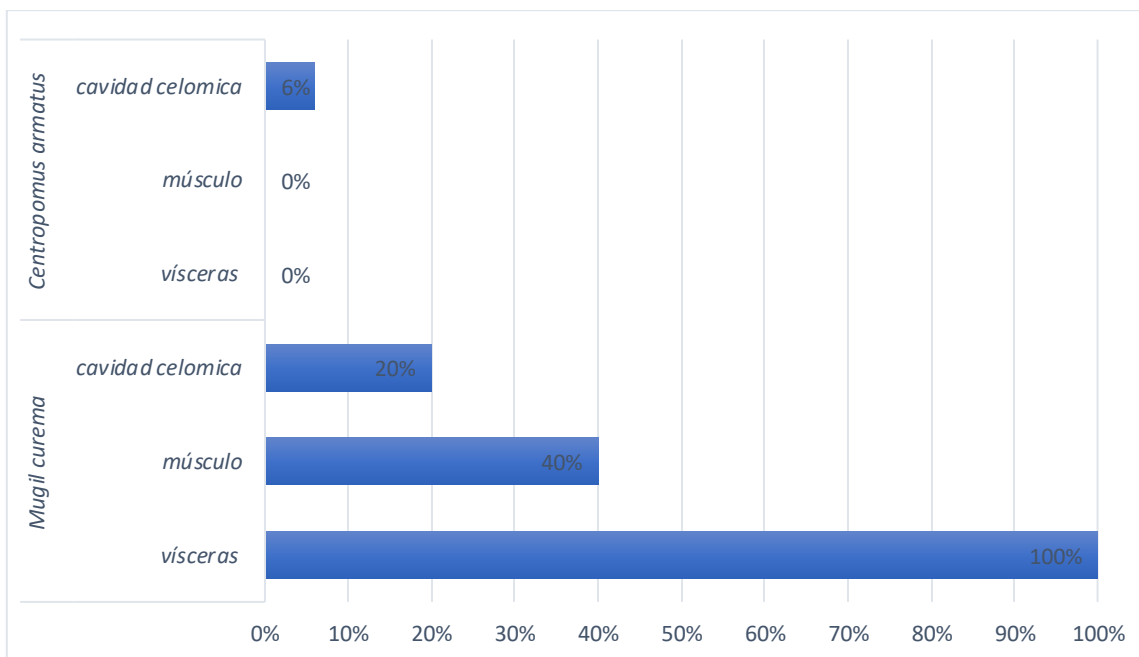
Los grupos externos utilizados durante el análisis de las secuencias fueron de *Toxocara leonina* y *Ascaris suum*.

# **RESULTADOS**

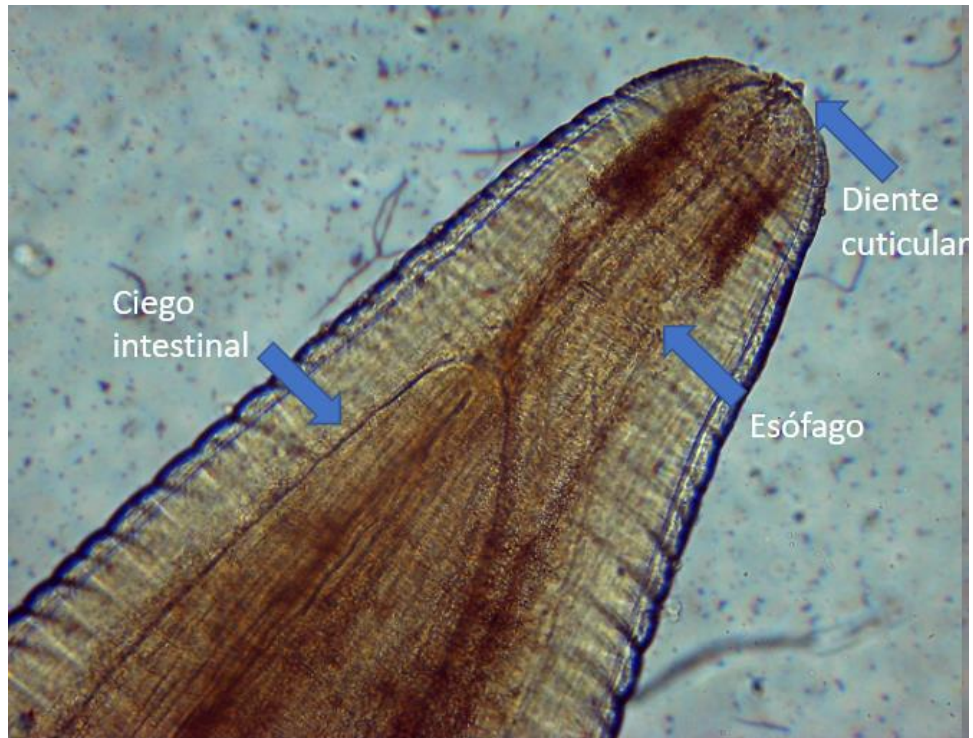
De los 60 peces muestreados, se encontró un 26% (16/60) de prevalencia de anisakidos, todos morfológicamente identificados como *Contracaecum* (Figuras 3 y 4). La especie de pez con mayor prevalencia fue *Mugil curema*, con un 100% de prevalencia (15/15), seguida de *Centropomus armatus* con 6% (1/15). Las estructuras anatómicas donde se encontraron las larvas fueron en músculo (37%), vísceras (94%) y cavidad celómica (25%), las cuales se pueden ver en la gráfica 1 y figura 5. Los valores morfométricos de los peces se presentan en el cuadro 5.

Los resultados de PCR permitieron identificar bandas entre 500 y 600 pares de bases para la región Cox-II, mientras que para la ssrRNA, se amplificó una banda entre 600 a 700 pares de bases (Figura 6 y 7).

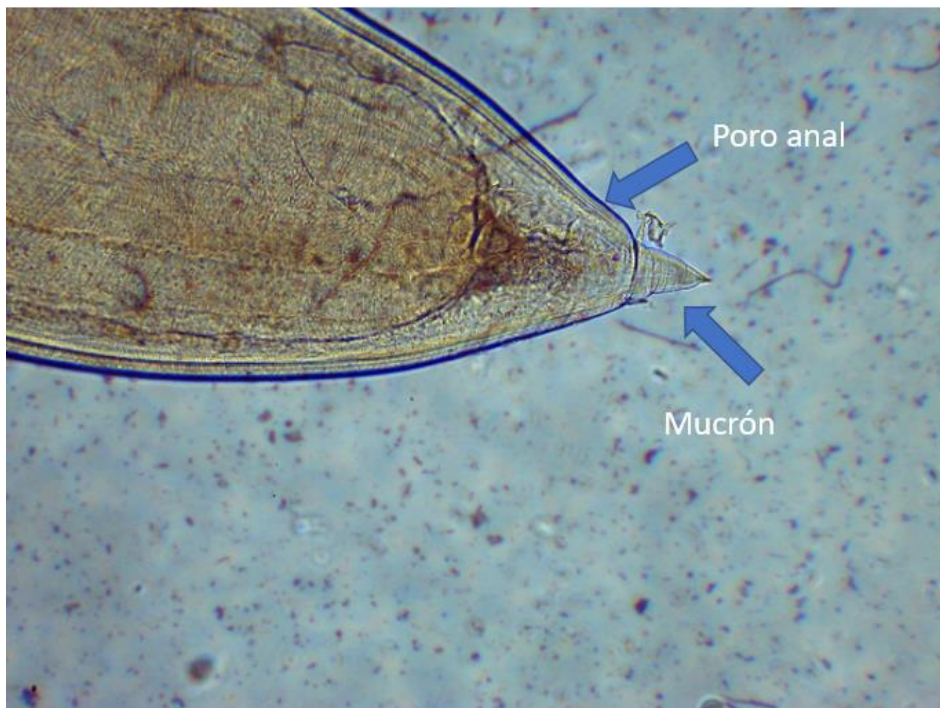
Los análisis de las secuencias obtenidas revelaron que los parásitos encontrados en *Mugil curema* obtuvieron un soporte mayor a 70 por el método de máxima probabilidad, lo que indica que pertenecen a la especie *Contracaecum multipapillatum* y las obtenidas de *Centropomus armatus* a *Contracaecum jorgei* (Figura 8 y 9).



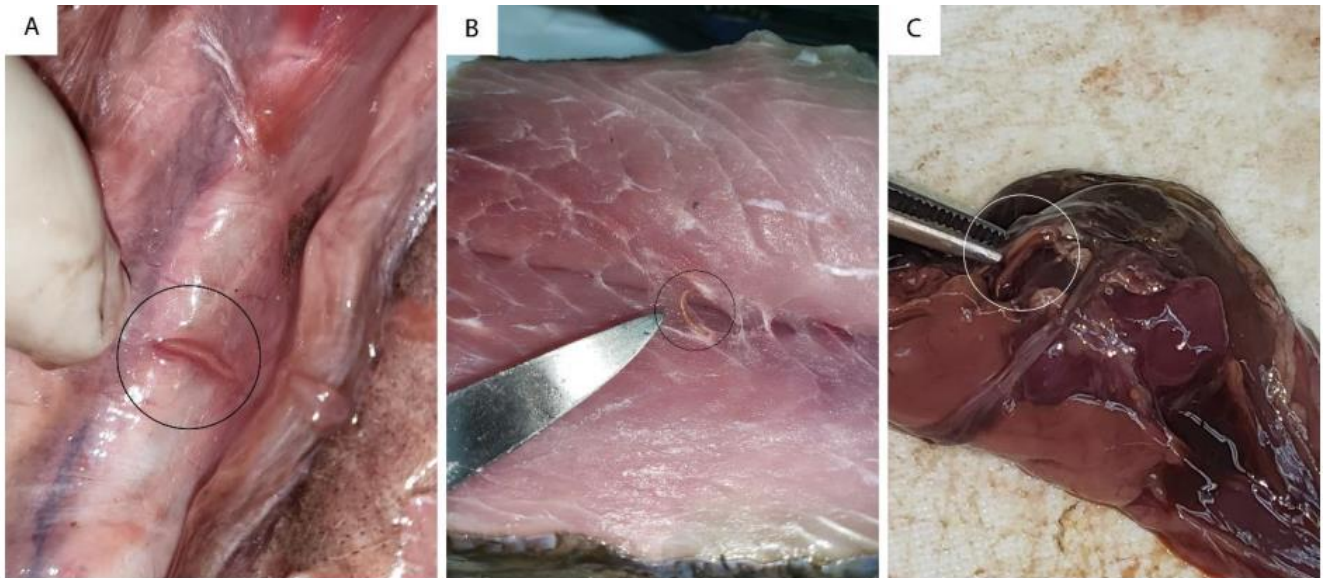
**Gráfica 1.** Prevalencias encontradas de larvas L3 de *Contracaecum sp.* en las especies de peces positivos.



**Figura 3.** Larva L3 del género *Contracaecum* con sus estructuras anatómicas craneales características.



**Figura 4.** Larva L3 del género *Contracaecum* con sus estructuras anatómicas caudales características.



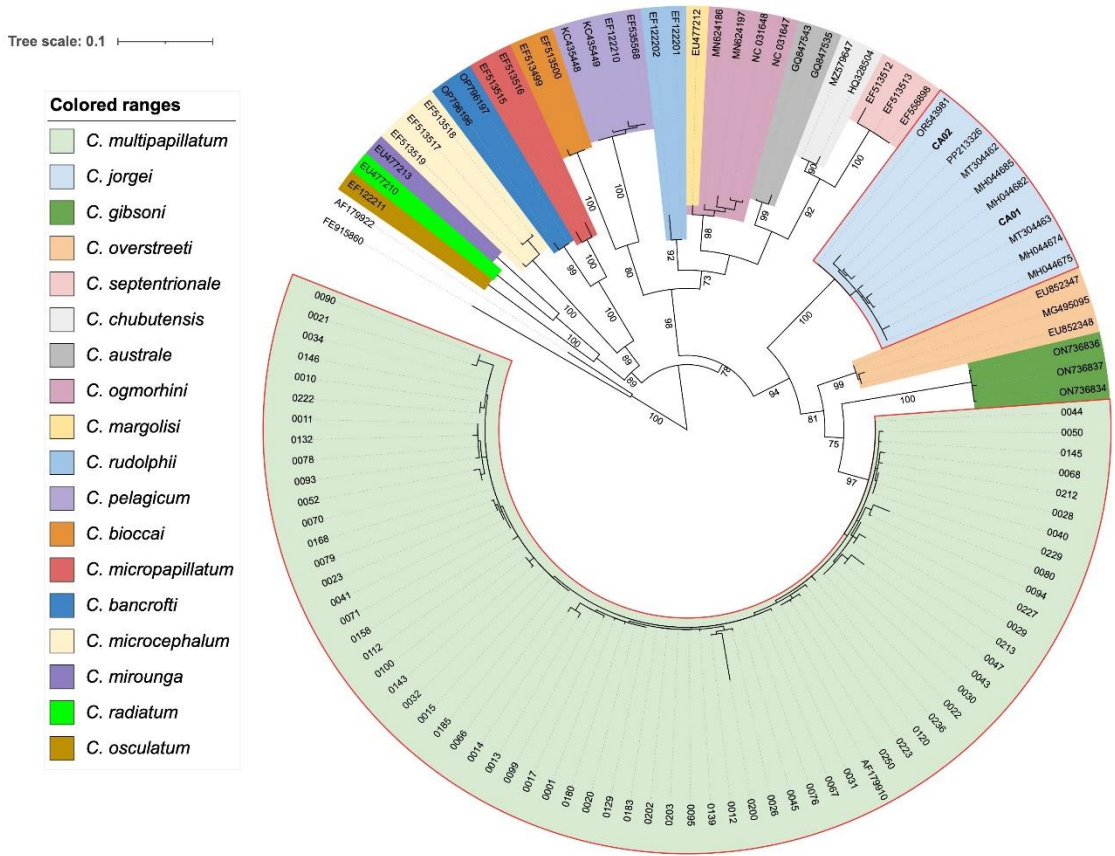
**Figura 5.** Estructuras anatómicas de los peces con presencia de larvas L3 del género *Contracaecum*. A (cavidad celómica), B (musculatura) y C (vísceras).



**Figura 6.** Gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio con los productos de PCR región cox-II con una banda de entre 500 a 600 pares de bases, específicos para anisakidos. Los números del 1 al 2 corresponden a los pocillos con muestras procedentes de *Centropomus armatus* mientras que del 3 al 26 pertenecen a *Mugil curema*. Pb indica el marcador de 1000 pares de bases.



**Figura 7.** Gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio con los productos de PCR de la región ssrRNA con una banda entre 600 a 700 pares de bases, específicos para anisakidos. Los números del 1 al 2 corresponden a los pocillos con muestras procedentes de *Centropomus armatus* mientras que del 3 al 27 pertenecen a *Mugil curema*. Pb indica el marcador de 1000 pares de bases.



**Figura 8.** Relación filogenética circular entre secuencias de diferentes aislados de *Contracaecum*, del estudio y publicados, mediante el análisis de máxima probabilidad para el fragmento Cox-II, demostrando la caracterización de las especies *Contracaecum jorgei* y *Contracaecum multipapillatum*.

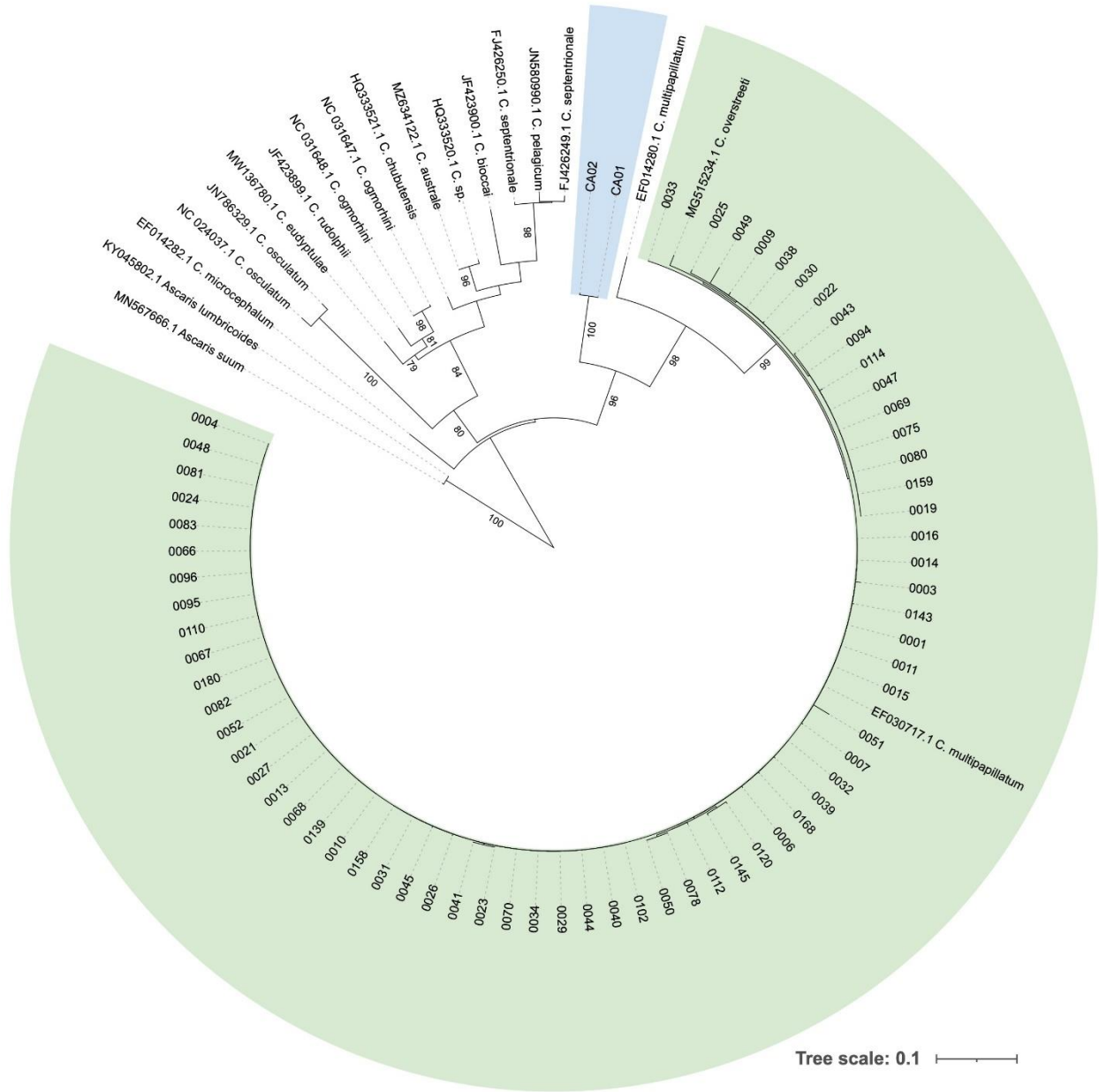


Figura 9. Relación filogenética circular entre secuencias de diferentes aislados de *Contracaecum*, del estudio y publicados, mediante el análisis de máxima probabilidad para el fragmento *ssrRNA*, demostrando la caracterización de las especies *Contracaecum jorgei* y *Contracaecum multipapillatum*.

# DISCUSIÓN

La diferencia entre las prevalencias parasitarias de distintas especies de peces es uno de los factores determinantes para conocer cuál de ellas posee mayor potencial como hospederos intermediarios. En el presente estudio, *Mugil curema* fue la especie con mayor prevalencia, siendo descrita con un alto grado de adaptabilidad a diferentes grados de salinidad, además de ser capaz de migrar de estuarios a mar abierto; conducta migratoria descrita para poblaciones presentes desde México hasta Brasil (Avigliano et al., 2021). Sumado a esto, estudios recientes demuestran que la alimentación de algunos mugilidos (*Mugil curema* y *Mugil liza*) puede variar dependiendo del área donde se encuentre, indicando que la alimentación generalmente plantónica que se observa en mar abierto, cambia a alimentación bentónica en los estuarios (Vollrath et al., 2021), por lo que esta conducta alimenticia podría ser relevante. Los estadios larvales del parásito, previo a lo encontrado en este estudio, suelen utilizar como hospederos intermediarios a organismos menores en la cadena trófica, como son los bentónicos (Ángeles-Hernández et al., 2020). Esto permitiría explicar el alto grado de parasitosis encontrado en *Mugil curema*.

En la segunda especie mayormente parasitada, *Centropomus armatus*, se encontró una prevalencia mucho menor a la encontrada en *Mugil curema*. En otros estudios se ha encontrado *Contracaecum* con prevalencias del 48% y *Anisakis physeteris* en prevalencias de 42% (Castellanos et al., 2018; Castellanos-Garzón et al., 2020). Las únicas especies estudiadas anteriormente en Panamá son de la Familia Lutjanidae (Borrero. A, 2023) y al igual que en este estudio, *Lutjanus colorado*, especie perteneciente a esta familia, no presentó parásitos, lo que nos lleva a suponer que uno de los factores que podrían influir en las parasitaciones de estos peces, podría ser la dieta, ya que de las cuatro especies estudiadas, solamente el *Mugil curema* se caracteriza por tener una dieta omnívora. Esto contrasta con un estudio realizado en El Salvador, donde en las especies *Lutjanus guttatus* y *Cynoscion stolzmanni* se encontraron parasitadas por *Contracaecum* sp. en un 77.08% y 22.92% respectivamente (Guevara Carranza et al., 2016). Esto nos permite asumir entonces que, además de la dieta, pueden existir otros factores, desconocidos hasta el

momento, involucrados en la transmisión de estos parásitos a los hospederos intermediarios en el pacífico panameño.

Los hospederos definitivos de los parásitos del género *Contracaecum* son, en su mayoría, aves piscívoras y algunos pinnípedos (Ángeles-Hernández et al., 2020). Panamá es un país que se caracteriza por, la gran presencia de aves, incluyendo las piscívoras, que en otras partes del mundo se han descrito como hospederos definitivos del género *Contracaecum*, dentro de los cuales está descrito el pelicano pardo americano (*Pelecanus occidentalis*) y el cormorán neotropical (*Nannopterum brasilianus*) (Ángeles-Hernández et al., 2020). En América se ha demostrado la presencia de diversas especies de *Contracaecum* en estas especies (D'amelio et al., 2007; L. Garbin et al., 2011; L. E. Garbin et al., 2013; Lucas Emiliano Garbin et al., 2023). Esto nos permite llegar a pensar que estas especies podrían estar realizando un rol como hospederos definitivos, siendo capaz de perpetuar el ciclo de estos parásitos en la región.

*Contracaecum jorgei* es una especie recientemente descrita (Sardella et al., 2020), y desde esta primera descripción, se han realizado trabajos que han demostrado nuevos hospederos intermediarios y distribuciones geográficas para esta especie en diversos puntos de América; la más reciente ha sido en Colombia, en peces del río Porce (Rave, 2024. artículo no publicado). En Brasil, una de las especies descrita como hospedero intermediario de este parásito ha sido *Centropomus undecimalis*, al que se le ha determinado una prevalencia del 66.7% (Duarte et al., 2024), siendo este autor el que refirió el hecho de haberse cometido un error en la identificación molecular de *Contracaecum jorgei*, al ser confundida con *Contracaecum multipapillatum* en Costa Rica y Guatemala (Choc-M et al., 2020).

Otro aspecto de relevancia en este estudio, hace referencia a la capacidad zoonótica del género *Contracaecum*, la cual no ha sido demostrada hasta el momento, comparándola con otros géneros de anisakidos. En este sentido, se ha descrito, un reporte en humanos donde el autor indica no haber podido llegar a identificar claramente al agente etiológico, siendo, aun así, reportado como género

*Contraecum* (Shamsi & Barton, 2023). Bajo esta premisa otros autores han comentado la importancia de lograr la identificación mediante el uso de herramientas moleculares, como la PCR, debido a que la identificación morfológica, especialmente de los estadios larvarios, solo permite llegar hasta a nivel de género, y los adultos solo se encuentran en los hospederos definitivos (Falla-Zuñiga et al., 2021; Shamsi & Barton, 2023). Esto puede llevar a realizar diagnósticos erróneos como el citado anteriormente (Shamsi & Barton, 2023). Estos reportes, recalcan igualmente, la importancia en continuar las investigaciones para hacer conciencia, sobretodo a las entidades de salud de los países, sobre la presencia del parásito y exhortar su inclusión dentro de los diagnósticos diferenciales en los casos que se caracterizan principalmente por cuadros gastrointestinales.

# CONCLUSIÓN

- Este estudio constituye el primer reporte de *Contracaecum jorgei* y *Contracaecum multipapillatum*, caracterizados tanto morfológica y molecularmente, en dos especies de peces comercializados en Panamá.
- El análisis filogenético permitió establecer un soporte del 97 al 100 por ciento utilizando el método de máxima probabilidad para *Contracaecum jorgei* y *Contracaecum multipapillatum* con ambos marcadores moleculares, lo que permite identificar con veracidad que las especies descritas fueron las encontradas en los peces estudiados.
- Se desconoce el potencial zoonótico de estas especies identificadas, sin embargo, es necesario continuar las investigaciones para conocer más sobre aquellos parásitos presentes en peces de valor comercial.

# **RECOMENDACIONES**

- Incentivar nuevas investigaciones que permitan identificar otras especies de hospederos intermediarios y de parásitos que puedan representar un riesgo para la salud pública
- Informar a los profesionales de la salud para que estén conscientes de la presencia de parásitos de este grupo en Panamá, para que las enfermedades asociadas a éstos, sean incluidos dentro de los diagnósticos diferenciales.
- Exhortar a las autoridades de salud de Panamá para que eduquen a la población y a las personas que se dedican a la captura y venta de peces para consumo, que tengan conocimiento sobre este parásito e implementar medidas para evitar la infección a los humanos.

# **BIBLIOGRAFÍA**

- A. Akbar, S. G. (2005). Anisakiasis—a neglected diagnosis in the West.
- Abollo, E., Paggi, L., Pascual, S., & D'Amelio, S. (2003). Occurrence of recombinant genotypes of *Anisakis simplex*s.s. and *Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae) in an area of sympatry. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 3(3), 175–181. [https://doi.org/10.1016/s1567-1348\(03\)00073-x](https://doi.org/10.1016/s1567-1348(03)00073-x)
- Abou-Rahma, Y., Abdel-Gaber, R., & Kamal Ahmed, A. (2016). First record of *Anisakis simplex* third-stage larvae (Nematoda, Anisakidae) in European hake *Merluccius merluccius lessepsianus* in Egyptian water. *Journal of Parasitology Research*, 2016, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2016/9609752>
- Aco Alburquerque, R., Palomba, M., Santoro, M., & Mattiucci, S. (2020). Molecular identification of zoonotic parasites of the genus *Anisakis* (Nematoda: Anisakidae) from fish of the Southeastern Pacific Ocean (off Peru coast). *Pathogens*, 9(11), 910. <https://doi.org/10.3390/pathogens9110910>
- Adroher-Auroux, F. J., & Benítez-Rodríguez, R. (2020). Anisakiasis and *Anisakis*: An underdiagnosed emerging disease and its main etiological agents. *Research in Veterinary Science*, 132, 535–545. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.08.003>
- Airahuacho Bautista, F. E., Cuellar Reyes, J. D. C., Romero Bozzetta, J. L., & Encarnación Valentín, N. F. (2020). Primer reporte de *Anisakis* spp. en peces de agua dulce en Huacho, Perú. *Revista de investigaciones veterinarias del Peru*, 30(4), 1662–1669. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i4.17151>
- Al Quraishy, S., Abdel-Gaber, R., & Dkhil, M. A. M. (2019). First record of *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Anisakidae) infecting the Red spot emperor *Lethrinus lentjan* in the Red Sea. *Revista brasileira de parasitología*

veterinaria [Brazilian journal of veterinary parasitology], 28(4), 625–631.  
<https://doi.org/10.1590/s1984-29612019057>

Ángeles-Hernández, J. C., Gómez-de Anda, F. R., Reyes-Rodríguez, N. E., Vega-Sánchez, V., García-Reyna, P. B., Campos-Montiel, R. G., Calderón-Apodaca, N. L., Salgado-Miranda, C., & Zepeda-Velázquez, A. P. (2020). Genera and species of the Anisakidae family and their geographical distribution. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 10(12), 2374. <https://doi.org/10.3390/ani10122374>

Avigliano, E., Ibañez, A., Fabré, N., Callicó Fortunato, R., Méndez, A., Pisonero, J., & Volpedo, A. V. (2021). Unravelling the complex habitat use of the white mullet, *Mugil curema*, in several coastal environments from Neotropical Pacific and Atlantic waters. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 31(4), 789–801. <https://doi.org/10.1002/aqc.3486>

Borges, J. N., Cunha, L. F. G., Santos, H. L. C., Monteiro-Neto, C., & Portes Santos, C. (2012). Morphological and molecular diagnosis of anisakid nematode larvae from cutlassfish (*Trichiurus lepturus*) off the coast of Rio de Janeiro, Brazil. *PloS One*, 7(7), e40447. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040447>

Borrero, A, J. D. (2023). Presencia de Anisákidos en *Lutjanus guttatus* y *Lutjanus colorado* en muestras obtenidas del Golfo de Panamá. Universidad de Panamá, Facultad de Medicina Veterinaria.

Brooker, S., Kabatereine, N. B., Smith, J. L., Mupfasoni, D., Mwanje, M. T., Ndayishimiye, O., Lwambo, N. J., Mbotha, D., Karanja, P., Mwandawiro, C., Muchiri, E., Clements, A. C., Bundy, D. A., & Snow, R. W. (2009). An updated atlas of human helminth infections: the example of East Africa. *International Journal of Health Geographics*, 8(1), 42. <https://doi.org/10.1186/1476-072X-8-42>

- Caldeira, A. J. R., Pereira Alves, C. P., & Santos, M. J. (2021). Anisakis notification in fish: An assessment of the cases reported in the European Union rapid alert system for food and feed (RASFF) database. *Food Control*, 124(107913), 107913. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107913>
- Cammilleri, G., D'Amelio, S., Ferrantelli, V., Costa, A., Buscemi, M. D., Castello, A., Bacchi, E., Goffredo, E., Mancini, M. E., & Cavallero, S. (2023). Identification of *Contraecaecum rudolphii* (Nematoda: Anisakidae) in Great Cormorants *Phalacrocorax carbo sinensis* (Blumenbach, 1978) from Southern Italy. *Veterinary Sciences*, 10(3), 194. <https://doi.org/10.3390/vetsci10030194>
- Castellanos, J. A., Tangua, A. R., Mercado, R., & Salazar, L. (2018). First reporting of Anisakis sp. in the Armed Snook fish (*Centropomus armatus*) caught and commercialized in Buenaventura, Colombia. *Infectio: revista de la Asociación Colombiana de Infectología*, 22(3), 136. <https://doi.org/10.22354/in.v22i3.724>
- Castellanos-Garzón, J. A., Falla-Zúñiga, L. F., Salazar, L., & Pustovrh-Ramos, M. C. (2020). Anisákidos y anisakidosis: generalidades y su actualidad en Colombia. Revisión bibliográfica. *IATREIA*, 33(2), 143–154. <https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.47>
- Choc-M, L. F., Jiménez-R, A., Arguedas-C, D., & Dolz, G. (2020). *Contraecaecum multipapillatum* (Nematoda: Anisakidae) en peces de aguas continentales de Guanacaste, Costa Rica e Izabal, Guatemala. *Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA*, 12(2), e767. <https://doi.org/10.24188/recia.v12.n2.2020.767>
- Choi, S. K., Kim, C. K., Kim, S. H., & Jo, D. I. (2017). Anisakiasis involving the oral mucosa. *Archives of Craniofacial Surgery*, 18(4), 261–263. <https://doi.org/10.7181/acfs.2017.18.4.261>

- D'amelio, S., Barros, N. B., Ingrosso, S., Fauquier, D. A., Russo, R., & Paggi, L. (2007). Genetic characterization of members of the genus *Contraecaecum* (Nematoda: Anisakidae) from fish-eating birds from west-central Florida, USA, with evidence of new species. *Parasitology*, 134(7), 1041–1051. <https://doi.org/10.1017/s003118200700251x>
- D'Amelio, S., Lombardo, F., Pizzarelli, A., Bellini, I., & Cavallero, S. (2020). Advances in omic studies drive discoveries in the biology of anisakid nematodes. *Genes*, 11(7), 801. <https://doi.org/10.3390/genes11070801>
- Data sheet on foodborne biological hazards/*Anisakis* spp. *Pseudoterranova* spp. French Agency for Food, Environmental and Occupational Health and Safety. (2011).
- de la Fuente, V. Z. (2018). Estudio del papel inmunomodulador de los antígenos larvarios de *Anisakis simplex*. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.
- Du, C., Zhang, L., Shi, M., Ming, Z., Hu, M., & Gasser, R. B. (2010). Elucidating the identity of *Anisakis* larvae from a broad range of marine fishes from the Yellow Sea, China, using a combined electrophoretic-sequencing approach. *Electrophoresis*, 31(4), 654–658. <https://doi.org/10.1002/elps.200900531>
- Duarte, R., Martinatti, B. R., de Lima, V. M., Tubino, R. de A., Oliveira, M. de S., Berto, B. P., & Santos-Clapp, M. D. (2024). *Contraecaecum jorgei* Sardella, Mancini, Salinas, Simões & Luque, 2020 (Nematoda: Anisakidae) in common snooks *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) in southeastern Brazil: new host, locality record and remarks on misidentifications of *Contraecaecum* spp. in Genbank. En Research Square. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4110348/v1>

- Escobar-Anleu, B. I., Escobar-Anleu, B. I., Mora, J. M., De León, R., & De León, R. (2018). Presencia del cormorán neotropical *Phalacrocorax brasilianus* (Gmelin, 1789) en el Valle del Motagua, Guatemala. *CEIBA*, 55(1), 60–63. <https://doi.org/10.5377/ceiba.v55i1.4617>
- Fagerholm, H. P. (1990). Systematic position and delimitation of ascaridoid nematode parasites of the genus *Contraecum* with a note on the superfamily Ascaridoidea.
- Falla-Zuñiga, L. F., Castellanos-Garzón, J. A., Salazar, L., & Pustovrh, M. C. (2021). Anisákidos y anisakidosis: Reportes de caso y hospedadores en América del Sur. Revisión sistemática. *Revista de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia*, 69(2), e79105. <https://doi.org/10.15446/revfacmed.v69n2.79105>
- Fernández-Delgado, F. J., Martínez-Castillo, R., Lasanta-Melero, B., Gaitero-Reina, C., & Domínguez-Escobar, J. F. (2015). Infección por *Anisakis* con presentación atípica: a propósito de un caso. *Semergen*, 41(3), 176–177. <https://doi.org/10.1016/j.semerng.2014.02.010>
- Ferreira, A. P. D. S., Tarmeño Rojas, N., Queiroz, S. D. C., Vidal, L. G. P., Da Fonseca, F. T. B., Da Silva Júnior, V. A., Luque, J. L., & Oliveira, J. B. (2020). Parasitic infestations and infections in marine fish (Actinopterygii: Lutjanidae and mullidae) marketed in Brazil – an animal and human health issue. *Archives of Veterinary Science*, 25(4). <https://doi.org/10.5380/avs.v25i4.75537>
- Garbin, L., Mattiucci, S., Paoletti, M., González-Acuña, D., & Nascetti, G. (2011). Genetic and morphological evidences for the existence of a new species of *Contraecum* (Nematoda: Anisakidae) parasite of *Phalacrocorax brasilianus* (Gmelin) from Chile and its genetic relationships with congeners from fish-eating

- birds. *The Journal of Parasitology*, 97(3), 476–492. <https://doi.org/10.1645/GE-2450.1>
- Garbin, Lucas E., Diaz, J. I., & Navone, G. T. (2019). Species of *Contraecaecum* Parasitizing the Magellanic Penguin *Spheniscus Magellanicus* (Spheniscidae) from the Argentinean Coast. *The journal of parasitology*, 105(2), 222. <https://doi.org/10.1645/17-91>
- Garbin, Lucas E., Mattiucci, S., Paoletti, M., Diaz, J. I., Nascetti, G., & Navone, G. T. (2013). Molecular identification and larval morphological description of *Contraecaecum pelagicum* (Nematoda: Anisakidae) from the anchovy *Engraulis anchoita* (Engraulidae) and fish-eating birds from the Argentine North Patagonian Sea. *Parasitology International*, 62(3), 309–319. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2013.03.001>
- Garbin, Lucas Emiliano, Servián, A., Fuentes, L., Morgenthaler, A., Millones, A., Fuchs, D., Diaz, J. I., & Navone, G. T. (2023). Phylogenetic relationship between *Contraecaecum* spp. (Nematoda, Anisakidae) parasitizing cormorants (Aves, Phalacrocoracidae) from Argentina. En *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3209950/v1>
- Garzon, J. A. C., Rubén Mercado P, Sebastián Peña F, María Carolina Pustovrh R, & Liliana Salazar M. (2020). *Anisakis physeteris* y *Pseudoterranova decipiens* en el pez Mugil Curema comercializado en Tumaco, Colombia. *Revista MVZ Cordoba*, 25(2), e1781. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1781>
- Guevara Carranza, I. N., Pérez Segovia, C. E., & Pineda Chacón, J. E. (2016). Endoparásitos helmintos en peces corvina (*Cynoscion stolzmanni*), róbalo

(*Centropomus medius*) y pargo (*Lutjanus guttatus*), en el Puerto de La Libertad de El Salvador. Universidad de El Salvador.

Hernández-Vázquez, S., & Mellink, E. (2001). Coastal waterbirds of El Chorro and Majahuas, Jalisco, México, during the non-breeding season, 1995-1996. *Revista de Biología Tropical*, 49(1), 359–367.

Hoang, D. T., Chernomor, O., von Haeseler, A., Minh, B. Q., & Vinh, L. S. (2018). UFBoot2: Improving the ultrafast bootstrap approximation. *Molecular Biology and Evolution*, 35(2), 518–522. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx281>

Kalyaanamoorthy, S., Minh, B. Q., Wong, T. K. F., von Haeseler, A., & Jermini, L. S. (2017). ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods*, 14(6), 587–589. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4285>

Kassai, T., Cordero Del Campillo, M., Euzeby, J., Gaafar, S., Hiepe, T., & Himonas, C. A. (1988). Standardized nomenclature of animal parasitic diseases (SNOAPAD). *Veterinary Parasitology*, 29(4), 299–326. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(88\)90148-3](https://doi.org/10.1016/0304-4017(88)90148-3)

Katoh, K., & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4), 772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>

Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Meintjes, P., & Drummond, A. (2012). Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* (Oxford, England), 28(12), 1647–1649. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>

- Kijewska, A., Rokicki, J., Sitko, J., & Wegrzyn, G. (2002). Ascaridoidea: a simple DNA assay for identification of 11 species infecting marine and freshwater fish, mammals, and fish-eating birds. *Experimental Parasitology*, 101(1), 35–39. [https://doi.org/10.1016/s0014-4894\(02\)00031-0](https://doi.org/10.1016/s0014-4894(02)00031-0)
- Klimpel, S., Kuhn, T., Münster, J., Dörge, D. D., Klapper, R., & Kochmann, J. (2019). *Parasites of marine fish and cephalopods*. Springer International Publishing.
- Laffon-Leal, S. M., Vidal-Martínez, V. M., & Arjona-Torres, G. (2000). 'Cebiche'--a potential source of human anisakiasis in Mexico? *Journal of Helminthology*, 74(2), 151–154. <https://doi.org/10.1017/s0022149x00000202>
- Letunic, I., & Bork, P. (2019). Interactive Tree Of Life (iTOL) v4: recent updates and new developments. *Nucleic Acids Research*, 47(W1), W256–W259. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz239>
- Lopes, P., Vilares, A., Caçador, T., Martins, S., Ferreira, I., Carvalho, L. M., & Gargaté, M. J. (2020). Occurrence of larval anisakids in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) caught in Portuguese waters. *Parasitology Research*, 119(9), 2799–2811. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06816-y>
- Martin-Carrillo, N., García-Livia, K., Baz-González, E., Abreu-Acosta, N., Dorta-Guerra, R., Valladares, B., & Foronda, P. (2022). Morphological and molecular identification of *Anisakis* spp. (Nematoda: Anisakidae) in commercial fish from the Canary Islands coast (Spain): Epidemiological data. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 12(19), 2634. <https://doi.org/10.3390/ani12192634>
- Martínez-Rojas, R., Mondragón-Martínez, A., De-Los-Santos, E. R., Cruz-Neyra, L., García-Candela, E., Delgado-Escalante, A., & Sanchez-Venegas, J. R. (2021). Molecular identification and epidemiological data of *Anisakis* spp. (Nematoda:

Anisakidae) larvae from Southeastern Pacific Ocean off Peru. *International Journal for Parasitology. Parasites and Wildlife*, 16, 138–144.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2021.09.001>

Mattiucci, S., & Nascetti, G. (2006). Molecular systematics, phylogeny and ecology of anisakid nematodes of the genus *Anisakis Dujardin*, 1845: an update. *Parasite (Paris, France)*, 13(2), 99–113. <https://doi.org/10.1051/parasite/2006132099>

Mattiucci, Simonetta, Cipriani, P., Levsen, A., Paoletti, M., & Nascetti, G. (2018). Molecular epidemiology of *Anisakis* and anisakiasis: An ecological and evolutionary road map. *Advances in Parasitology*, 99, 93–263.  
<https://doi.org/10.1016/bs.apar.2017.12.001>

Mattiucci, Simonetta, Cipriani, P., Webb, S. C., Paoletti, M., Marcer, F., Bellisario, B., Gibson, D. I., & Nascetti, G. (2014a). Genetic and morphological approaches distinguish the three sibling species of the *Anisakis simplex* species complex, with a species designation as *Anisakis berlandi* n. sp. for *A. simplex* sp. C (Nematoda: Anisakidae). *The Journal of Parasitology*, 100(2), 199–214.  
<https://doi.org/10.1645/12-120.1>

Mattiucci, Simonetta, Cipriani, P., Webb, S. C., Paoletti, M., Marcer, F., Bellisario, B., Gibson, D. I., & Nascetti, G. (2014b). Genetic and Morphological Approaches Distinguish the Three Sibling Species of the *Anisakis simplex* Species Complex, with a Species Designation as *Anisakis berlandi* n. sp. For *A. simplex* sp. C (Nematoda: Anisakidae). *The Journal of Parasitology*, 100(2), 199–214.  
<https://doi.org/10.1645/12-120.1>

Mattiucci, Simonetta, Paggi, L., Nascetti, G., Ishikura, H., Kikuchi, K., Sato, N., Cianchi, R., & Bullini, L. (1998). Allozyme and morphological identification of shape

Anisakis, *Contracaecum* and *Pseudoterranova* from Japanese waters (Nematoda, Ascaridoidea). *Systematic Parasitology*, 40(2), 81–92. <https://doi.org/10.1023/a:1005914926720>

Mattiucci, Simonetta, Paoletti, M., Olivero-Verbel, J., Baldiris, R., Arroyo-Salgado, B., Garbin, L., Navone, G., & Nascetti, G. (2007). *Contracaecum bioccai* n. sp. from the brown pelican *Pelecanus occidentalis* (L.) in Colombia (Nematoda: Anisakidae): morphology, molecular evidence and its genetic relationship with congeners from fish-eating birds. *Systematic Parasitology*, 69(2), 101–121. <https://doi.org/10.1007/s11230-007-9116-4>

Mattiucci, Simonetta, Sbaraglia, G. L., Palomba, M., Filippi, S., Paoletti, M., Cipriani, P., & Nascetti, G. (2020). Genetic identification and insights into the ecology of *Contracaecum rudolphii* A and *C. rudolphii* B (Nematoda: Anisakidae) from cormorants and fish of aquatic ecosystems of Central Italy. *Parasitology Research*, 119(4), 1243–1257. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06658-8>

Minh, B. Q., Schmidt, H. A., Chernomor, O., Schrempf, D., Woodhams, M. D., von Haeseler, A., & Lanfear, R. (2020). IQ-TREE 2: New models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Molecular Biology and Evolution*, 37(5), 1530–1534. <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa015>

Molecular Identification of Nematode Worms from Seafood (*Anisakis* spp. and *Pseudoterranova* spp.) and Meat (*Trichinella* spp). (s/f).

Molina-Fernández, D., Valles-Vega, I., Hernández-Trujillo, S., Adroher, F. J., & Benítez, R. (2017). A scanning electron microscopy study of early development in vitro of *Contracaecum multipapillatum* s.l. (Nematoda: Anisakidae) from a brown pelican

- (*Pelecanus occidentalis*) from the Gulf of California, Mexico. *Parasitology Research*, 116(10), 2733–2740. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5583-y>
- Moreno-Sánchez, X. G. (2015). Diet of the yellowfin snook, *Centropomus robalito* (Actinopterygii: Perciformes: Centropomidae), in the southwestern Gulf of California. *Acta ichthyologica et piscatoria*, 45(1), 21–29. <https://doi.org/10.3750/aip2015.45.1.03>
- Muñoz Batet, C. (2002). ANISAKIOSIS Y ANISAKIDOSIS.
- Mur, A. C. O. (2001). Presencia de larvas de Anisákidos (nematoda: Ascaridoidea) en pescado de consumo capturado en la zona pesquera de Tarragona. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Murata, R., Suzuki, J., Sadamasu, K., & Kai, A. (2011). Morphological and molecular characterization of Anisakis larvae (Nematoda: Anisakidae) in *Beryx splendens* from Japanese waters. *Parasitology International*, 60(2), 193–198. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2011.02.008>
- Murrell, K. (2002). Fishborne zoonotic parasites: Epidemiology, detection and elimination. En *Safety and Quality Issues in Fish Processing*. CRC Press.
- Nadler, S. A., & Hudspeth, D. S. (2000). Phylogeny of the Ascaridoidea (Nematoda: Ascaridida) based on three genes and morphology: hypotheses of structural and sequence evolution. *The Journal of Parasitology*, 86(2), 380–393. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2000\)086\[0380:POTANA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2000)086[0380:POTANA]2.0.CO;2)
- Patiño, J. A., & Olivera, M. J. (2019). Anisakiasis gastro-alérgica, primera descripción de un caso en Colombia y revisión bibliográfica. *Biomédica: Revista Del Instituto Nacional de Salud*, 39(2), 241–246. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v39i2.3936>

- Pekmezci, G. Z. (2014). Occurrence of *Anisakis simplex sensu stricto* in imported Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) represents a risk for Turkish consumers. *International Journal of Food Microbiology*, 185, 64–68. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.05.018>
- Pekmezci, G. Z. (2021). Genetic Analysis of the Mitochondrial *rrnS* Gene of Zoonotic *Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae) Isolated from *Micromesistius Poutassou* (R.) in the Aegean Sea. *Journal of anatolian environmental and animal sciences*, 6(2), 266–269. <https://doi.org/10.35229/jaes.913695>
- Pereira, F. B., & González-Solís, D. (2022). Review of the parasitic nematodes of marine fishes from off the American continent. *Parasitology*, 149(14), 1928–1941. <https://doi.org/10.1017/S0031182022001287>
- Pontes, T., D'Amelio, S., Costa, G., & Paggi, L. (2005). Molecular characterization of larval anisakid nematodes from marine fishes of Madeira by a PCR-based approach, with evidence for a new species. *The Journal of Parasitology*, 91(6), 1430–1434. <https://doi.org/10.1645/GE-565R1.1>
- Pozio, E. (2013). Integrating animal health surveillance and food safety: the example of *Anisakis*: -EN- -FR- La surveillance intégrée de la santé animale et de la sécurité sanitaire des aliments: l'exemple d'*Anisakis* -ES- Integración de vigilancia zoonitaria e higiene de los alimentos: el ejemplo de *Anisakis*. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 32(2), 487–496. <https://doi.org/10.20506/rst.32.2.2246>
- Rahmati, A. R., Kiani, B., Afshari, A., Moghaddas, E., Williams, M., & Shamsi, S. (2020). World-wide prevalence of *Anisakis* larvae in fish and its relationship to human

- allergic anisakiasis: a systematic review. *Parasitology Research*, 119(11), 3585–3594. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06892-0>
- Rahmati, A. R., Kiani, B., Afshari, A., Moghaddas, E., Williams, M., & Shamsi, S. (2021). Correction to: World-wide prevalence of Anisakis larvae in fish and its relationship to human allergic anisakiasis: a systematic review. *Parasitology Research*, 120(5), 1925–1926. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07096-w>
- Rave, A. et al. (2024). *Contracaecum jorgei* in fishes from the Porce river basin, Antioquia, Colombia.
- Rengifo-Herrera, C., Ferre, I., Ortega-Mora, L. M., Rojo-Montejo, S., García-Moreno, F. T., García-Párraga, D., García-Peña, F. J., Pereira-Bueno, J., & Pedraza-Díaz, S. (2014). Helminth parasites found in faecal samples of phocids from the Antarctic Peninsula. *Polar Biology*, 37(5), 685–695. <https://doi.org/10.1007/s00300-014-1469-y>
- Robertson, L. J. (2018). Parasites in food: From a neglected position to an emerging issue. *Advances in Food and Nutrition Research*, 86, 71–113. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2018.04.003>
- Safonova, A. E., Voronova, A. N., & Vainutis, K. S. (2021). First report on molecular identification of *Anisakis simplex* in *Oncorhynchus nerka* from the fish market, with taxonomical issues within Anisakidae. *Journal of Nematology*, 53(1), 1–10. <https://doi.org/10.21307/jofnem-2021-023>
- Sardella, C. J., Mancini, M., Salinas, V., Simões, R. O., & Luque, J. L. (2020). A new species of *Contracaecum* (Nematoda: Anisakidae) found parasitizing *Nannopterum brasilianus* (Suliformes: Phalacrocoracidae) and *Hoplias argentinensis* (Characiformes: Erythrinidae) in South America: morphological and

- molecular characterization of larval and adult stages. *Journal of Helminthology*, 94(e184), e184. <https://doi.org/10.1017/S0022149X20000644>
- Seinhorst, J. W. (1962). On the killing, fixation and transferring to glycerin of nematodes. *Nematologica*, 8(1), 29–32. <https://doi.org/10.1163/187529262x00981>
- Shamsi, S., & Barton, D. P. (2023). A critical review of anisakidosis cases occurring globally. *Parasitology Research*, 122(8), 1733–1745. <https://doi.org/10.1007/s00436-023-07881-9>
- Shih, H.-H., Ku, C.-C., & Wang, C.-S. (2010). *Anisakis simplex* (Nematoda: Anisakidae) third-stage larval infections of marine cage cultured cobia, *Rachycentron canadum* L., in Taiwan. *Veterinary Parasitology*, 171(3–4), 277–285. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.03.023>
- Smith, J. W., & Wootten, R. (1978). *Anisakis* and Anisakiasis. In *Advances in Parasitology* Volume 16 (pp. 93–163). Elsevier.
- Sonko, P., Chih-Cheng Chen, S., Chou, C.-M., Huang, Y.-C., Hsu, S.-L., Barčák, D., Oros, M., & Fan, C.-K. (2020). Multidisciplinary approach in study of the zoonotic *Anisakis* larval infection in the blue mackerel (*Scomber australasicus*) and the largehead hairtail (*Trichiurus lepturus*) in Northern Taiwan. *Wei Mian Yu Gan Ran Za Zhi [Journal of Microbiology, Immunology, and Infection]*, 53(6), 1021–1029. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2019.04.012>
- Sugiyama, H., Shiroyama, M., Yamamoto, I., Ishikawa, T., & Morishima, Y. (2022). Anisakiasis annual incidence and causative species, Japan, 2018–2019. *Emerging infectious diseases*, 28(10), 2105–2108. <https://doi.org/10.3201/eid2810.220627>

- Suzuki, J., Murata, R., & Kodo, Y. (2021). Current status of anisakiasis and *Anisakis* larvae in Tokyo, Japan. *Food Safety*, 9(4), 89–100. <https://doi.org/10.14252/foodsafetyfscj.d-21-00004>
- Terán-Angel, G., & Rojas, J. (2012). Anisakidosis, inflamación e hipersensibilidad. *Avances en Biomedicina*, 1(1), 30–37. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=331328086006>
- Torres-Frenzel, P., & Torres, P. (2014). Anisakid parasites in commercial hake ceviche in southern Chile. *Journal of Food Protection*, 77(7), 1237–1240. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-13-538>
- Valentini, A., Mattiucci, S., Bondanelli, P., Webb, S. C., Mignucci-Giannone, A. A., Colom-Llavina, M. M., & Nascetti, G. (2006a). Genetic relationships among *Anisakis* species (Nematoda: Anisakidae) inferred from mitochondrial *cox2* sequences, and comparison with allozyme data. *The Journal of Parasitology*, 92(1), 156–166. <https://doi.org/10.1645/GE-3504.1>
- Van Hien, H., Thi Dung, B., Ngo, H. D., & Doanh, P. N. (2021a). First morphological and molecular identification of third-stage larvae of *Anisakis typica* (Nematoda: Anisakidae) from marine fishes in Vietnamese water. *Journal of Nematology*, 53(1), 1–9. <https://doi.org/10.21307/jofnem-2021-010>
- Vergara-Flórez, V., & Consuegra, A. (2021). *Contraecaecum* sp. (Nematode: Anisakidae) en peces de interés comercial en el golfo de Morrosquillo, Sucre - Colombia. *Gestión y ambiente*, 24(2), 97356. <https://doi.org/10.15446/ga.v24n2.97356>
- Vollrath, S. R., Possamai, B., Schneck, F., Hoeinghaus, D. J., Albertoni, E. F., & Garcia, A. M. (2021). Trophic niches and diet shifts of juvenile mullet species coexisting

in marine and estuarine habitats. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, *Marine Biological Association of the United Kingdom*, 101(2), 431–441. <https://doi.org/10.1017/s0025315421000242>

Zhu, X., D'Amelio, S., Paggi, L., & Gasser, R. B. (2000). Assessing sequence variation in the internal transcribed spacers of ribosomal DNA within and among members of the *Contraecaecum osculatum* complex (Nematoda: Ascaridoidea: Anisakidae). *Parasitology Research*, 86(8), 677–683. <https://doi.org/10.1007/pl00008551>

Zhu, X., Gasser, R. B., Podolska, M., & Chilton, N. B. (1998). Characterisation of anisakid nematodes with zoonotic potential by nuclear ribosomal DNA sequences. *International Journal for Parasitology*, 28(12), 1911–1921.

Zhu, X. Q., D'amelio, S., Palm, H. W., Paggi, L., George-Nascimento, M., & Gasser, R. B. (2002). SSCP-based identification of members within the *Pseudoterranova decipiens* complex (Nematoda: Ascaridoidea: Anisakidae) using genetic markers in the internal transcribed spacers of ribosomal DNA. *Parasitology*, 124(6), 615–623. <https://doi.org/10.1017/s0031182002001579>