



**UCSC**

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE LA SANTÍSIMA CONCEPCIÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS**

Efectos del tiempo de congelación y de la cantidad de lípidos y proteínas del músculo de cuatro especies de peces hospedadores en la mortalidad de larvas de

*Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae).

Por

Annais Madelein Pulido Pacheco

MEMORIA PARA OPTAR AL  
TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO MARINO

Profesora guía: Sara Magdalena Rodríguez San Martín

Concepción, Chile

2026

## CONSTANCIA

Esta Memoria de Título corresponde a una Habilitación Profesional ejecutada bajo la modalidad *vía académica*, con dedicación exclusiva durante un semestre académico, y enfocada íntegramente en la realización del trabajo de investigación aquí expuesto. El trabajo se desarrolló en la UCSC, bajo la guía de Sara M. Rodríguez San Martín.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a mi profesora guía, por el apoyo y paciencia durante el semestre.

Agradezco a mi familia y amigos por su apoyo incondicional, en especial en mis peores momentos durante este proceso.

## TABLA DE CONTENIDOS

Resumen .....	v
Abstract.....	vi
Introducción.....	1
Hipótesis .....	5
Hipótesis General.....	5
Hipótesis Específicas .....	5
Objetivos.....	6
Métodos .....	7
Colecta de pescados y obtención de filetes.....	7
Conteo de <i>Anisakis pegreffii</i> .....	8
Análisis de lípidos y proteínas .....	9
<i>Secado de muestras</i> .....	9
<i>Extracción de proteínas (basado en el método de Lowry et al. 1951)</i> .....	10
<i>Extracción de lípidos (basado en el método de Cequier-Sánchez et al. 2008)</i> .....	11
Determinación de prevalencia, abundancia e intensidad de <i>Anisakis pegreffii</i> . .....	12
Análisis estadísticos.....	12
<i>Mortalidad de Anisakis pegreffii en función de los días de congelación y especies de pescado</i> ....	12
<i>Mortalidad de Anisakis pegreffii en función de la composición química de la musculatura de las especies de pesces</i> .....	13
Resultados.....	14
Mortalidad de <i>Anisakis pegreffii</i> en congrio, jurel y merluza.....	15
Porcentaje de lípidos y proteínas promedio .....	16
Mortalidad de <i>Anisakis pegreffii</i> versus lípidos y proteínas, entre especies.....	18
Discusión .....	24
Referencias bibliográficas .....	27

## RESUMEN

La zoonosis corresponde a enfermedades transmitidas desde los animales hacia el ser humano. A nivel global se han identificado más de 200 enfermedades zoonóticas, generando una preocupación para la salud humana, algunos ejemplos más conocidos son la tuberculosis, gripe aviar, ébola, COVID-19 y la malaria. Las zoonosis también se transmiten a través de alimentos poco cocidos o crudos, llegando a producir brotes de gastroenteritis y cuadros sistémicos graves. Un caso particular es la anisakidosis, enfermedad parasitaria causada por larvas de nemátodos pertenecientes a la familia Anisakidae, entre los que destacan *Anisakis simplex*, *Anisakis* spp. y *Phocanema* spp. Existen diversas formas para prevenir el contagio de estas larvas. Por ejemplo, cocinar la carne a 60°C por al menos 2 minutos es lo más común. Otra estrategia ampliamente utilizada es el congelamiento del pescado a -20 °C durante al menos 48 horas. Sin embargo, investigaciones sugieren que este tratamiento podría variar dependiendo de la especie parasitaria, más en concreto la composición química del pez. Es por esto que surge la necesidad de evaluar experimentalmente la relación entre las condiciones de congelación y la mortalidad larval en especies de importancia comercial y consumo humano en Chile. Se evaluó la mortalidad de *Anisakis* spp. en reineta, merluza, congrio y jurel, exponiendo filetes parasitados a -20 °C durante 24, 48, 72 y 96 h. Además, se determinó si la composición química de la carne influye en el tiempo de congelación necesario para alcanzar el 100 % de mortalidad en el parásito. No se existen diferencias significativas en la mortalidad de *Anisakis* spp. entre las especies de peces estudiadas y entre la composición química de la musculatura de los peces, pero da un acercamiento a realizar investigaciones similares.

**Palabras clave:** Anisakidosis, composición química, nemátodo, tiempo de congelamiento, zoonosis.

## ABSTRACT

Zoonoses are diseases transmitted from animals to humans. More than 200 zoonotic diseases have been identified worldwide, causing concern for human health. Some of the best-known examples are tuberculosis, avian influenza, Ebola, COVID-19, and malaria. Zoonoses are also transmitted through undercooked or raw food, leading to outbreaks of gastroenteritis and severe systemic symptoms. A particular case is anisakidosis, a parasitic disease caused by nematode larvae belonging to the Anisakidae family, including *Anisakis simplex*, *Anisakis* spp. and *Phocanema* spp. There are several ways to prevent the spread of these larvae, the most common being to cook meat at 60°C for at least 2 minutes. Another widely used strategy is to freeze fish at -20°C for at least 48 hours. However, research suggests that this treatment may vary depending on the parasitic species, more specifically its chemical composition. This is why there is a need to experimentally evaluate the relationship between freezing conditions and larval mortality in species of commercial importance and human consumption in Chile. The mortality of *Anisakis* spp. in reineta, hake, conger eel, and horse mackerel was evaluated by exposing parasitized fillets to -20°C for 24, 48, 72, and 96 hours. In addition, it was determined whether the chemical composition of the meat influences the freezing time required to achieve 100% mortality in the parasite. The results did not show significant differences in mortality between species and their chemical composition, but they provide an approach for conducting similar research.

**Key words:** Anisakidosis, chemical composition, freezing time, nematode, zoonosis.

## INTRODUCCIÓN

Las zoonosis corresponden a enfermedades infecciosas transmitidas desde animales hacia el ser humano y representan un importante problema de salud pública a nivel mundial (Dabanch P 2003). Estas enfermedades pueden ser causadas por diversos agentes etiológicos, incluyendo a bacterias, virus, parásitos y hongos (Naquira 2010). Dichos agentes pueden ser transmitidos por diferentes mecanismos, algunos son por contacto directo, ingestión, inhalación, agentes intermediarios o mordeduras, o también por más de un mecanismo (Dabanch P 2003; Galvis Marín & Borda Rojas 2016). Actualmente, se han identificado más de 200 enfermedades zoonóticas a nivel global (Reyes-Novelo et al. 2011). Entre las enfermedades zoonóticas más comunes causadas por bacterias está la tuberculosis, la cual afecta principalmente a los pulmones, pero también puede comprometer otros órganos como los riñones o el sistema nervioso central (Bermejo & Clavera 2007). En el caso de las zoonosis virales, destacan enfermedades como la gripe aviar, el ébola, la rabia y el COVID-19, cuya propagación global en 2020 evidenció la magnitud del riesgo zoonótico (Wang & Crameri 2014; Bonilla-Aldana et al. 2020). Las zoonosis parasitarias también tienen una alta relevancia, como es el caso de la malaria, transmitida por la picadura del mosquito *Anopheles aegypti* infectados por *Plasmodium* spp. (Baker 2010).

Dentro de las vías de transmisión, el consumo de alimentos contaminados o mal procesados constituye un mecanismo relevante en la propagación de enfermedades zoonóticas. Algunos alimentos pueden actuar como vehículos de agentes infecciosos en el momento de su consumo, especialmente si no han sido sometidos a temperaturas adecuadas de cocción o conservación (Rossi et al. 2014; Bao et al. 2017). Este tipo de zoonosis, son responsables de una elevada morbilidad en la población humana y constituyen una preocupación creciente para las autoridades sanitarias debido al aumento del comercio global y las prácticas alimentarias que implican el consumo de productos poco cocidos o crudos (Rossi et al. 2014; Bao et al. 2017). Entre los agentes etiológicos más frecuentes asociados a estas infecciones se encuentran bacterias como *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7 (cepa), responsables de brotes de gastroenteritis y cuadros sistémicos graves, especialmente en poblaciones vulnerables (FAO, 2009; FAO, 2022). En cuanto a las zoonosis

parasitarias, destacan la cisticercosis, producida por *Taenia solium* (Larralde & De Aluja, 2006); y la triquinosis, provocada por el nemátodo *Trichinella spiralis*, adquirida al consumir carne de cerdo o jabalí cruda o insuficientemente cocida que contiene larvas viables del parásito (Dabanch P 2003). En este contexto, el consumo de productos marinos contaminados ha emergido como una fuente significativa de zoonosis parasitarias, especialmente en regiones donde existe una alta preferencia por preparaciones crudas o mínimamente cocidas, como ceviches, sashimi o sushi. Este tipo de prácticas culinarias ha favorecido la aparición y expansión de enfermedades como la anisakidosis, cuyos agentes causales son especies que pertenecen a la familia Anisakidae (Bao et al. 2017).

Un caso particular de zoonosis transmitida por el consumo de productos marinos es la anisakidosis, una enfermedad parasitaria causada por larvas en estadio 3 (L3) de nemátodos pertenecientes a la familia Anisakidae, entre los que destacan *Anisakis simplex*, *Anisakis* spp. y *Phocanema* spp. (Bao et al. 2017; Sugiyama et al. 2022). Estos parásitos se alojan principalmente en el tracto digestivo de peces y cefalópodos, y al ser consumidos por humanos en productos crudos o insuficientemente cocinados, pueden generar síntomas gastrointestinales agudos, tales como náuseas, vómitos, dolor abdominal y diarrea. En algunos casos, la sintomatología puede simular cuadros quirúrgicos como apendicitis o úlcera perforada (Cabrera & Del Pilar Trillo-Altamirano 2004). Se han descrito formas gástricas, intestinales y extraintestinales de la enfermedad, con manifestaciones que pueden ser tanto agudas como crónicas (Cabrera & Del Pilar Trillo-Altamirano 2004). La anisakidosis presenta una alta incidencia en países con tradición culinaria basada en el consumo de pescado crudo, como Japón, Corea, España, Italia y Estados Unidos (Audicana & Kennedy 2008); y en Sudamérica destacan países como Perú y Chile (Bracho Espinoza 2018). Según Sugiyama et al. (2022), evaluaron durante el periodo 2018-2019 la incidencia de anisakidosis. Se registraron en España entre 7.700 y 8.320 casos anuales, situando al país con el mayor número de infecciones en Europa. Sin embargo, Japón reportó cifras aún más elevadas, con aproximadamente 19.737 casos en el mismo período, lo que refleja la magnitud del problema sanitario y la necesidad de estrategias efectivas de control.

Para prevenir la transmisión de anisakidosis, se han propuesto diversos métodos destinados a inactivar las larvas antes del consumo de productos marinos. Entre las medidas más efectivas se encuentra la cocción del pescado a temperaturas superiores a 60 °C durante al menos 2 min.

También se ha evaluado la aplicación de tratamientos de alta presión hidrostática, los cuales, tras 5 min de exposición, logran una mortalidad del 100% de en las larvas (Brutti et al. 2010). Otra estrategia ampliamente utilizada es el congelamiento del pescado a -20 °C durante al menos 48 h (Alcántara Villar et al. 2015). No obstante, investigaciones recientes sugieren que la eficacia del congelamiento puede variar significativamente dependiendo de la especie parasitaria, el tipo de equipo de congelamiento utilizado (doméstico o comercial), y la composición química del tejido muscular del pez hospedador (Alcántara Villar et al. 2015). Por ejemplo, Podolska et al., (2019), evaluaron la mortalidad de larvas de *Anisakis simplex* y *Phocanema* spp. expuestas a diferentes temperaturas de congelación (-15, - 20 °C y -18, -25 °C), observando que *A. simplex* presenta una mayor resistencia al frío en comparación a *Phocanema* spp. Estos resultados generan dudas sobre la eficacia de los congeladores domésticos (usualmente a -18 °C) para lograr una inactivación completa del parásito. Asimismo, los autores sugieren que las diferencias en la composición lipídica y en la estructura muscular de los peces podrían influir en la supervivencia de las larvas durante el proceso de congelación (Podolska et al. 2019).

La musculatura de los peces está compuesta principalmente por agua, lípidos y proteínas, cuya proporción varía según la especie, el estado fisiológico y el ambiente del animal (Leonarduzzi et al. 2012). Diversos estudios han demostrado que el contenido de agua y lípidos mantiene una relación inversamente proporcional, lo que condiciona las propiedades térmicas del tejido muscular, influyendo directamente en el tiempo de congelamiento y en la velocidad de transferencia de calor durante este proceso (Johnston et al. 1994). En este sentido, una mayor proporción lipídica, puede retardar la congelación del músculo, generando microambientes que favorezcan la supervivencia de las larvas de parásitos. Si bien las proteínas no participan de manera directa en la dinámica de congelación, su concentración se asocia a la estructura del músculo y su capacidad de retención de agua, aspectos que pueden incidir indirectamente en la eficacia del tratamiento por congelamiento y en la inactivación de los parásitos presentes (Lv et al. 2021).

En Chile, el consumo de preparaciones a base de pescado crudo, como ceviche o sushi ha aumentado considerablemente la última década (Tuemmers et al. 2014). Especies como la merluza (*Merluccius gayi*), jurel (*Trachurus murphyi*), el congrio colorado (*Genypterus chilensis*) y la reineta (*Brama australis*), son ampliamente utilizadas en estas preparaciones

(Torres Frenzel 2013). Sin embargo, la evidencia nacional sobre la susceptibilidad de los anisákidos al congelamiento en estas especies es escasa. A pesar de recomendaciones generales emitidas por organizaciones como el Ministerio de Salud, no existen estudios locales que determinen con precisión la efectividad real del congelamiento como medida preventiva frente a estos parásitos. En este contexto, surge la necesidad de evaluar experimentalmente la relación entre las condiciones de congelación y la mortalidad larval en especies de importancia comercial y consumo humano en Chile. Por ello, el presente estudio tiene como propósito determinar la efectividad del congelamiento en la mortalidad de *Anisakis pegreffii* en músculo de distintas especies de peces destinadas al consumo humano. De manera particular, las siguientes preguntas orientan el siguiente estudio ¿El tiempo de congelamiento requerido para incrementar la mortalidad del parásito será diferente entre distintas especies de pescado?, Dado que el porcentaje proteico y lipídico de estas cuatro especies de peces puede ser distinto ¿Influyen estas diferencias en el tiempo requerido para alcanzar una mortalidad efectiva de los parásitos mediante congelación?

## HIPÓTESIS

### Hipótesis General

Dado las diferencias en la composición química de la musculatura de las especies de peces, especialmente en los niveles de lípidos y proteínas, se espera que el tiempo necesario de congelación para alcanzar una temperatura letal efectiva varíe entre ellas, lo que influirá directamente en la mortalidad en larvas del nemátodo *Anisakis pegreffii*.

### Hipótesis Específicas

- H1. La mortalidad de *Anisakis pegreffii* será significativamente mayor en las especies de pescado con menor contenido lipídico, tras ser sometidas al mismo tiempo y temperatura de congelación.
- H2. A una temperatura constante de -20 °C, el tiempo requerido para alcanzar una mortalidad del 100 % en larvas de *Anisakis pegreffii* diferirá significativamente entre las cuatro especies de peces estudiadas.

## OBJETIVOS

- Comparar la mortalidad de *Anisakis pegreffii* en merluza (*Merluccius gayi*), jurel (*Trachurus murphyi*), congrio colorado (*Genypterus chilensis*) y reineta (*Brama australis*), utilizados comúnmente para consumo humano, en diferentes tiempos (días) de congelamiento.
- Determinar y comparar el porcentaje promedio de lípidos y proteínas en merluza (*Merluccius gayi*), jurel (*Trachurus murphyi*), congrio colorado (*Genypterus chilensis*) y reineta (*Brama australis*), esperando una asociación entre la composición química y la mortalidad del parásito.
- Determinar la prevalencia, abundancia e intensidad de *Anisakis pegreffii* en merluza (*Merluccius gayi*), jurel (*Trachurus murphyi*), congrio colorado (*Genypterus chilensis*) y reineta (*Brama australis*).

## MÉTODOS

### Colecta de pescados y obtención de filetes

Los pescados fueron comprados en locales comerciales asociados a productos marinos en la Vega monumental, Concepción, Talcahuano y Coronel. Se seleccionaron 6 pescados frescos para cada especie (merluza, jurel, congrio colorado y reineta), posteriormente los individuos fueron trasladados a la Facultad de Ciencias de la UCSC.

Cada pescado se dispuso sobre una pesa estándar (Fagor) para medir el peso total (en gramos). Luego, mediante el uso de un cuchillo, se evisceró el pescado, retirando la cabeza y las aletas, y extrayendo todo el contenido visceral con pinzas. En especies como reineta y congrio colorado además se les quitó la piel, ya que ésta dificulta observar la carne a contraluz. Una vez eviscerado, se cortaron dos filetes por pescado (derecho e izquierdo, Figura 1). El primer filete se pesó y junto con unas pinzas se inoculó con 5 larvas L3 (*Anisakis pegreffii*) vivas, extraídos desde la cavidad celomática del pez, para asegurar la presencia del nemátodo en el tejido muscular. Con papel film se envolvió cada filete, enumerándolo del 1 al 6, y se guardaron los 6 filetes dentro de una bolsa Ziploc, etiquetado con el nombre de la especie, fecha y hora de congelación, y se guardó dentro de un congelador a  $-20^{\circ}\text{C}$ . En total se usaron 6 filetes para cada día de congelamiento (24h, 48h, 72h y 96h), es decir, 6 filetes para 24h, 6 para 48h, 6 para 72h y 6 para 96h. Se realizó lo mismo en las cuatro especies de peces.

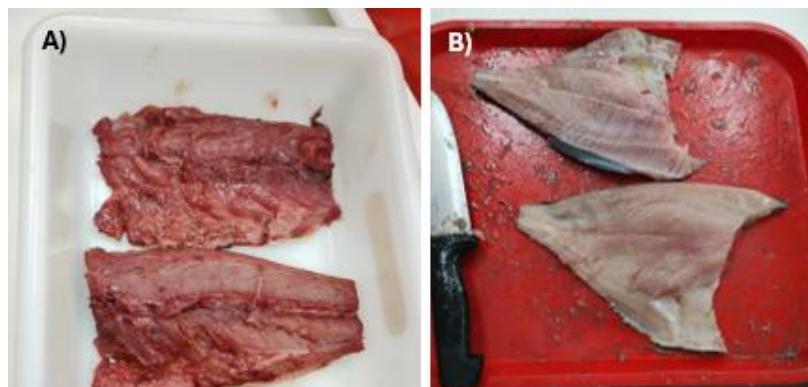


FIGURA 1.

Obtención de filetes luego de eviscerar los pescados, la imagen **A** corresponde a filetes de jurel y la imagen **B** corresponde a filetes de reineta.

### **Análisis químico del músculo**

Para el análisis de lípidos y proteínas, se utilizó el segundo filete de los dos que se extrajeron en un inicio (Figura 1). Se seleccionó un filete correspondiente a congelación de 1 día y uno de 3 días en cada especie de pez. Se cortó tres trozos pequeños, los cuales pesaron entre 5 a 8 g. Cada trozo se almacenó dentro de bolsas pequeñas individualmente, etiquetado con nombre de la especie y enumerado. Se seleccionaron un total de 6 trozos por cada especie, y se congeló los trozos hasta su posterior análisis de lípidos y proteínas.

### **Conteo de *Anisakis pegreffii***

Luego de que los filetes de las distintas especies de pez pasaron el tratamiento de los distintos días de congelación (24, 48, 72 y 96h), los filetes fueron retirados del congelador y descongelados en un contenedor con agua tibia. Pasado el tiempo de descongelamiento, se dispuso a los filetes sobre una cámara translúcida. La cámara translúcida corresponde a una caja con un panel blanco en la parte superior y que contiene luces blancas en su interior. Para usarla, se coloca el filete de pescado sobre la parte superior y en su interior irradia luz, transluciendo la musculatura del pez y permitiendo observar la presencia del parásito en la musculatura. Con ayuda de pinzas, se desmenuzó cada filete para obtener los parásitos (Figura 2). Luego fueron colocados sobre una placa Petri, con agua a temperatura ambiente (13°C prox.) por 20 minutos para determinar la mortalidad de las larvas. Si presentaban movilidad, se clasificaba como vivo, si no se movían, se clasificaba como muerto (Figura 3). La mortalidad y sobrevivencia de las larvas de parásitos fueron registradas para todas las especies de pez.

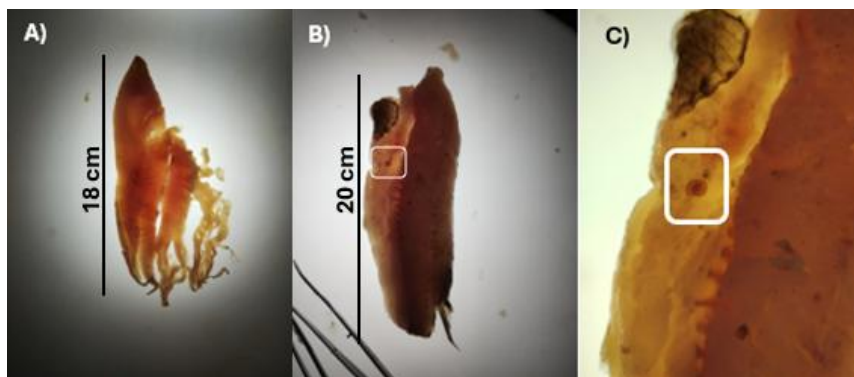


FIGURA 2.

Conteo de parásitos sobre cámara de luz. La imagen **A** corresponde a filete de reineta y la imagen **B** corresponde a filete de merluza. La imagen **C** es una ampliación del filete de merluza, en el cual se logra observar la presencia de *Anisakis pegreffii*.

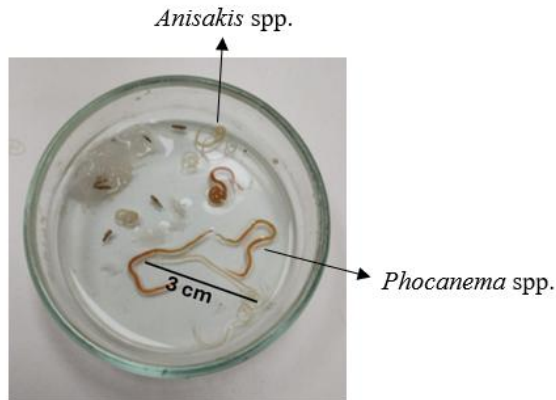


FIGURA 3.

Parásitos obtenidos de un filete de merluza, se observa *Anisakis pegreffii* y *Phocanema sp.*

### **Análisis de lípidos y proteínas**

#### *Secado de muestras*

Los trozos congelados (6 trozos por cada especie de pez), obtenidos anteriormente de los filetes, se colocaron sobre una placa Petri y con un bisturí se seccionó en partes más pequeñas. Una de las partes se almacenó dentro de un tubo Eppendorf de 1.5 mL (Figura 4), y se etiquetó según la especie de pez. Al terminar este proceso, los tubos fueron colocados en una gradilla y llevados a liofilizar durante dos a tres días (Figura 4). Se realizó lo mismo en cada especie de pez.

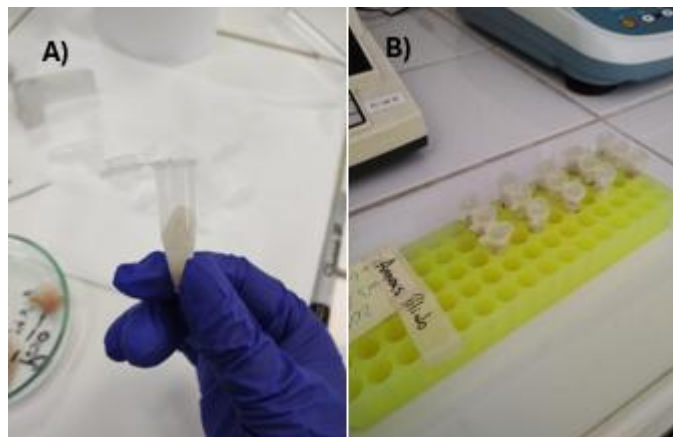


FIGURA 4.

Preparación de las muestras (A), previo a liofilizar. Se ordenan en la gradilla de acuerdo con los trozos de cada especie (B).

### Extracción de proteínas (basado en el método de Lowry et al. 1951)

Después de sacar las muestras del liofilizador se pesó 30 mg de cada muestra (Balanza analítica BEL ENGINEERING, modelo M), se traspasó a otro tubo Eppendorf etiquetado con el nombre de la especie correspondiente. Se agregó 1 mL de agua ultrapura al tubo y fue llevado a un desmembrador sónico durante 45 s para separar la muestra de carne y obtener las proteínas (Figura 5).

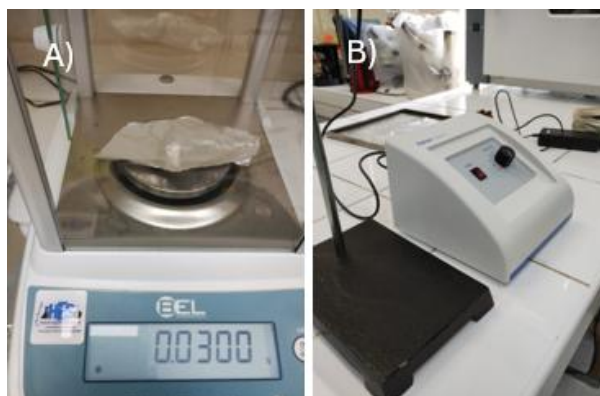


FIGURA 5.

Peso para las muestras de pescado seco (A) para luego utilizar desmembrado sónico (B) y separar las proteínas.

Antes de realizar el análisis de proteínas, se realizó una curva de calibración, con un estándar de proteína a las concentraciones de 0, 0.2, 0.5, 0.8, 1.1 y 1.37  $\mu\text{L}$  para posteriormente realizar la comparación de las proteínas obtenidas de las muestras. Posteriormente se preparó el reactivo A', con 1 mL de reactivo A y 20  $\mu\text{L}$  de reactivo S.

En microplacas de 96 pocillos, se vertió 5  $\mu\text{L}$  de cada muestra, incluyendo las muestras para la curva, luego se agregó 25  $\mu\text{L}$  de reactivo A' y 200  $\mu\text{L}$  de reactivo B. Se incuban las muestras durante 15 min y se llevó la microplaca a un espectrofotómetro BIOTECK (ELx808) para leer las muestras, a una absorbancia a 750 nm para determinar la concentración de proteínas presentes en cada muestra (Figura 6). Los resultados obtenidos se graficaron dentro del programa GEN y pasados a un Excel.

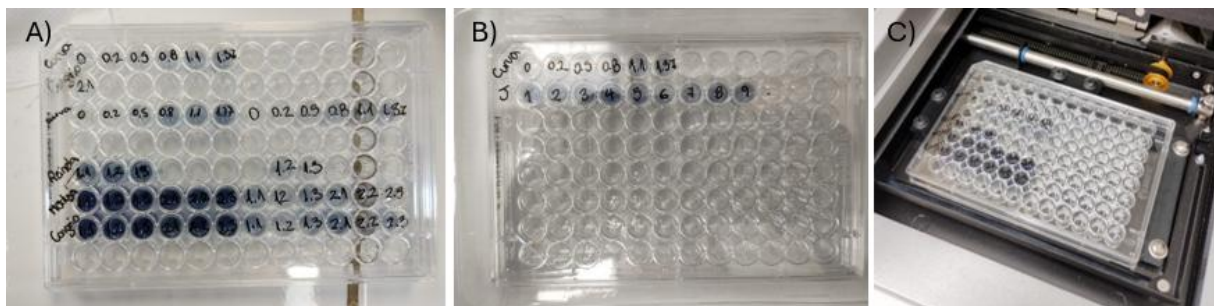


FIGURA 6.

Muestras de proteína para cada especie de pez junto con la curva de calibración.

#### **Extracción de lípidos (basado en el método de Cequier-Sánchez et al. 2008)**

Se pesó de 30 a 30.1 mg de muestra de tejido muscular liofilizada de pescado de cada especie. Cada muestra pesada, se depositó en tubos ámbar rotulados previamente. Se agregó 3 mL de diclorometano metanol (2:1) y se utilizó un desmembrador sónico durante 40 s para separar la muestra. El líquido de la muestra se traspasó a tubos Falcon (rotulados) y se agregaron 2 mL de KCl (50 mL de agua y 0.44 g de KCl al 0.88%). Los tubos Falcon pasaron por un vortex durante 15 s y luego se llevaron a una centrifuga a 1500 RPM por 5 min.

Luego de la centrifuga, quedan dos densidades en el tubo (Figura 7). Con ayuda de una pipeta, se extrae el líquido inferior (el cual contiene los lípidos) y se deposita en otro tubo ámbar (previamente secado y pesado), luego son secados con nitrógeno hasta que sólo queda la muestra de lípidos en el tubo (Figura 7). Los tubos fueron pesados nuevamente, y finalmente se calcularon los lípidos contenidos. Se realizó lo mismo en todas las especies de peces.

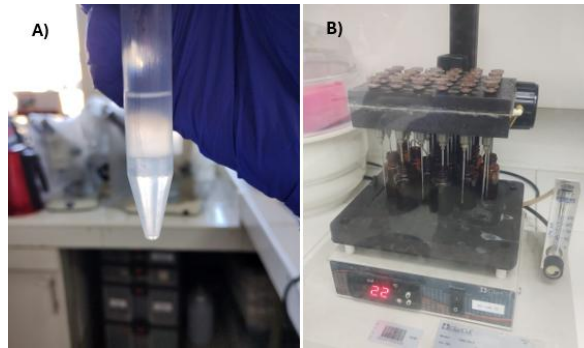


FIGURA 7.

Decantación de lípidos en la parte inferior (**A**). Secado de muestras para determinar la concentración de lípidos (**B**).

### **Determinación de prevalencia, abundancia e intensidad de *Anisakis pegreffii*.**

La **prevalencia** de parásitos, expresado en porcentaje, se calculó dividiendo el número hospedadores infectados (filetes), ya sea por 1 o más individuos, por el número de hospedadores evaluados (Bush et al. 1997). La **abundancia** fue estimada dividiendo el número de parásitos por el total de filetes estudiados (Bush et al. 1997). Finalmente, la **intensidad** se calculó como el total de parásitos encontrados dividido por el número de filetes infectados (Bush et al. 1997). Esto se realizó.

### **Análisis estadísticos**

#### *Mortalidad de *Anisakis pegreffii* en función de los días de congelación y especies de pescado*

Para evaluar la mortalidad de *A. pegreffii*, que fue inoculado en el tejido muscular de las diferentes especies de peces en los cuatro tratamientos de congelamiento, se aplicó un modelo mixto lineal generalizado (GLMM, por sus siglas en inglés) con distribución binomial, el cual presentó el mejor ajuste a la estructura de los datos (Basanta 2024). El modelo estuvo compuesto por la mortalidad del parásito como variable respuesta, los días de congelamiento y la especie de pescado como variables fijas, y los filetes como variable aleatoria, con el fin de considerar la

variabilidad asociada a las unidades de muestreo. Para este análisis se utilizó el programa JMP Student Edition 19.

*Mortalidad de Anisakis pegreffii en función de la composición química de la musculatura de las especies de peces*

Se utilizó el programa JMP Student Edition 19 para evaluar la mortalidad de *A. pegreffii* en relación con la composición química presente en el tejido muscular de las especies de peces estudiadas. Para ello, se ajustaron dos modelos mixtos lineales generalizados (GLMM, por sus siglas en inglés) con distribución binomial, los cuales presentaron el mejor ajuste a los datos. En ambos modelos, la mortalidad del parásito fue considerada como variable respuesta, mientras que el porcentaje de lípidos y el porcentaje de proteínas se incorporaron como variables fijas en modelos independientes. En ambos casos, los filetes fueron incluidos como variable aleatoria, con el fin de considerar la variabilidad asociada a las unidades de muestreo.

## RESULTADOS

De los 24 filetes analizados correspondientes a las 4 especies de pez, los descriptores parasitológicos mostraron diferencias en la carga parasitaria de cada individuo. En primera instancia, la reineta no presentó ningún parásito en su musculatura (Tabla 1). En cambio, los filetes de merluza y jurel analizados todos presentaron al menos 1 parásito (Tabla 1). El congrio colorado albergó la mitad de sus filetes algún parásito (Tabla 1). Con respecto a la abundancia de parásitos, los filetes de merluza fueron los que presentaron mayor abundancia (7.41 parásitos por filete analizado), luego el jurel (3.54 parásitos por filete analizado) y luego el congrio, el cual presentó menor abundancia por filete analizado (1.6; Tabla 1). La intensidad de parásitos también varió entre las especies de pescado. La merluza fue la que presentó mayor intensidad de parásitos y tanto el jurel como el congrio presentaron intensidades similares de carga parasitaria en los filetes infectados (Tabla 1).

TABLA N° 1.

Prevalencia, abundancia e intensidad de *Anisakis pegreffii* en reineta, merluza, congrio y jurel (n = 24 en cada caso)

<b>Especie</b>	<b>Prevalencia (%)</b>	<b>Abundancia</b>	<b>Intensidad</b>
<b>Reineta (<i>Brama australis</i>)</b>	0 %	0	0
<b>Merluza (<i>Merluccius gayi</i>)</b>	100%	7.41	7.41
<b>Congrio colorado (<i>Genypterus chilensis</i>)</b>	50%	1.6	3.55
<b>Jurel (<i>Trachurus murphyi</i>)</b>	100%	3.54	3.54

### Mortalidad de *Anisakis pegreffii* en congrio, jurel y merluza

No se encontraron de la especie *A. pegreffii* en la musculatura de reineta, por lo que los análisis de mortalidad se efectuaron en las tres especies restantes. En filetes de congrio se obtuvo un 100 % de mortalidad del parásito a las 72 h de congelación. En el jurel, los parásitos vivieron hasta las 96 h, con un individuo vivo. La mortalidad en filetes de merluza fue del 100% desde las 24 h de congelamiento (Figura 8). No se encontraron diferencias significativas en la mortalidad de *A. pegreffii* entre las especies estudiadas ( $p > 0.2630$ ), pero sí existen diferencias significativas entre las 24 – 96 h ( $p > 0.018$ ) y 48 – 96 h ( $p > 0.0021$ ).

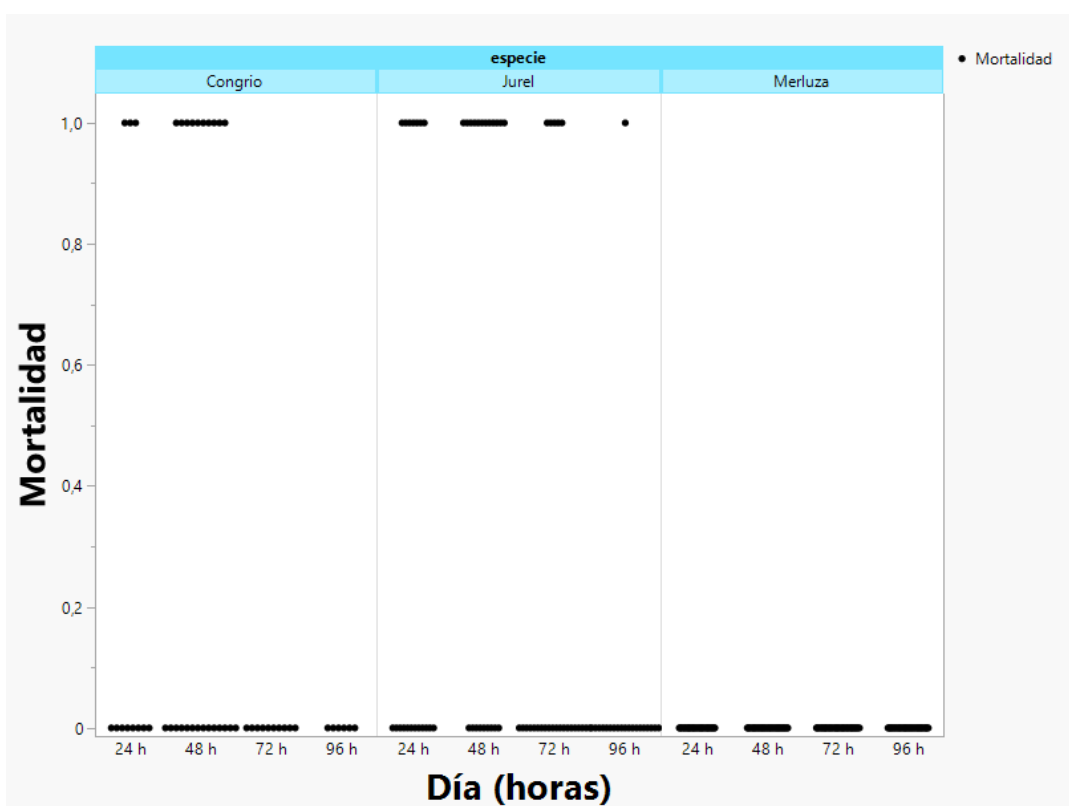


FIGURA 8.

Mortalidad de *Anisakis pegreffii* en peces comerciales, donde “1” significa parásito vivo y con “0” a los parásitos muertos.

### Porcentaje de lípidos y proteínas promedio

La composición de lípidos varió entre la musculatura de los peces analizados. La merluza arrojó un 1.58 % de lípidos promedio presente en la musculatura, del congrio colorado se obtuvo un 1.60 % de lípidos promedio y el jurel obtuvo un 2.06 % promedio de lípidos en musculatura (Tabla 2, Figura 9). Con respecto a la cantidad de proteínas, su composición también fue distinta entre los peces analizados. La merluza obtuvo un 23.2 % de proteínas promedio, el congrio colorado obtuvo un 30.11 % de proteínas promedio y en el jurel se encontró un 7.81 % de proteínas promedio presentes en la musculatura (Tabla 2, Figura 10).

TABLA N°2.

Porcentaje de lípidos y proteínas promedio de los filetes de merluza, congrio y jurel.

<b>Especie</b>	<b>% lípidos</b>	<b>% proteínas</b>
<b>Merluza</b> <i>(Merluccius gayi)</i>	1.58	23.2
<b>Congrio colorado</b> <i>(Genypterus chilensis)</i>	1.60	30.11
<b>Jurel</b> ( <i>Trachurus murphyi</i> )	2.06	7.81

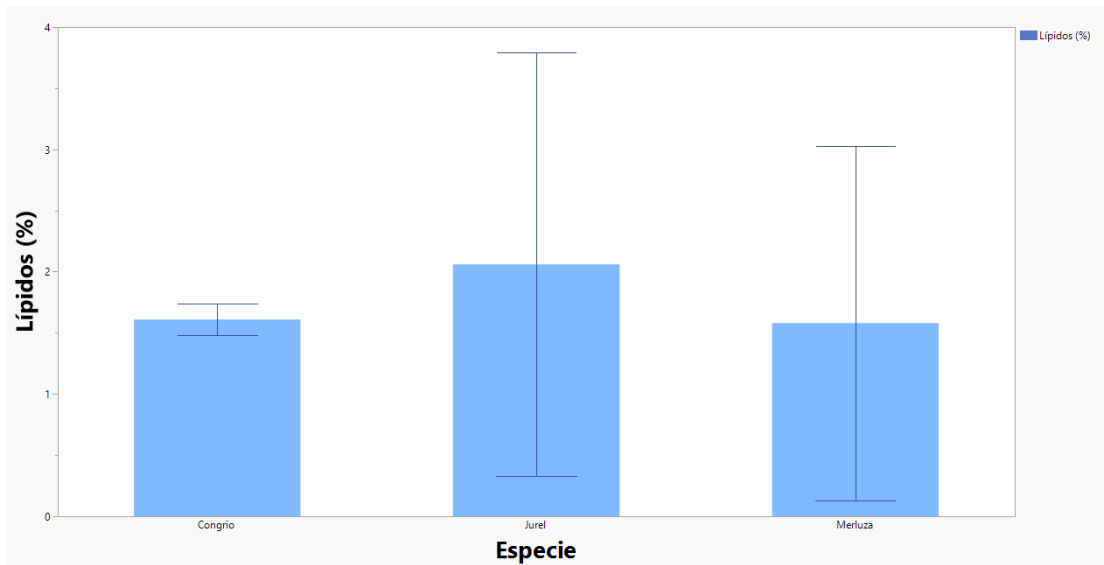


FIGURA 9.

Análisis de lípidos promedio presentes en la musculatura de la merluza, congrio y jurel.

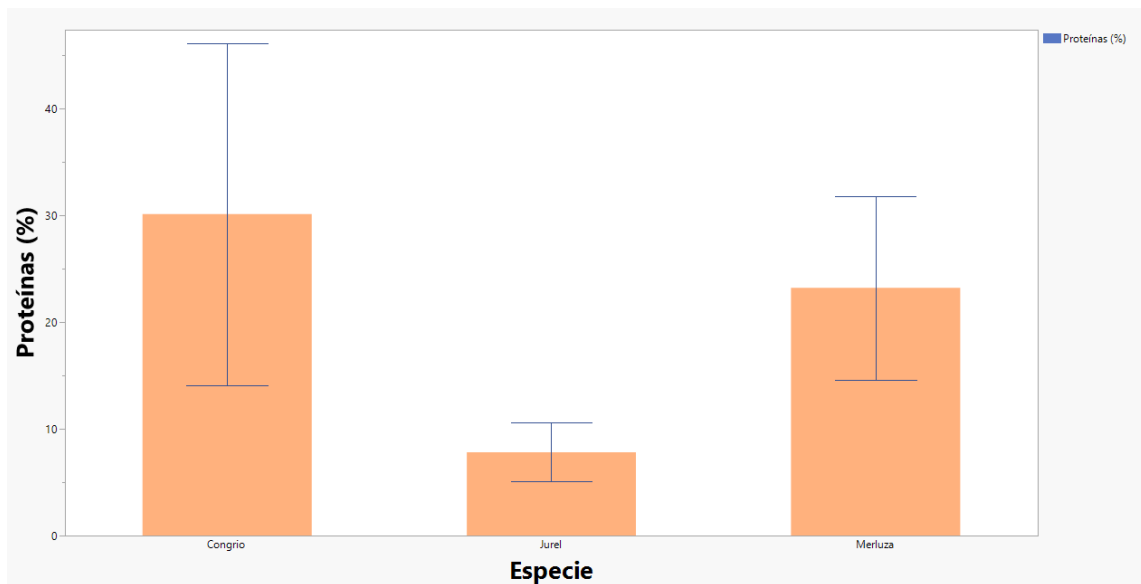


FIGURA 10.

Análisis de proteínas promedio presentes en la musculatura de la merluza, congrio y jurel.

### Mortalidad de *Anisakis pegreffii* versus lípidos y proteínas, entre especies

Con respecto a la mortalidad de *A. pegreffii* entre los lípidos y proteínas y entre las especies de peces, los resultados mostraron que no existen diferencias significativas en la mortalidad de *A. pegreffii* ( $p > 0.96$ ) entre los porcentajes de lípidos de cada especie (Figura 11, 12 y 13).



FIGURA 11.

Mortalidad de *Anisakis pegreffii* en función del contenido lipídico de la merluza, donde “1” significa parásito vivo y con “0” a los parásitos muertos.



FIGURA 12.

Mortalidad de *Anisakis pegreffi* en función del contenido lipídico del congrio colorado, donde “1” significa parásito vivo y con “0” a los parásitos muertos.

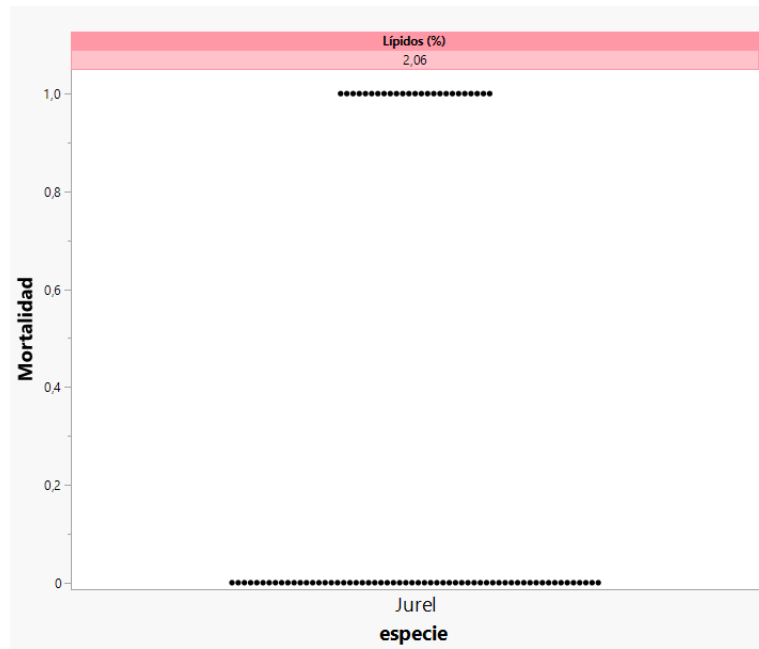


FIGURA 13.

Mortalidad de *Anisakis pegreffi* en función del contenido lipídico del jurel, donde “1” significa parásito vivo y con “0” a los parásitos muertos.

Con respecto a la mortalidad de *A. pegreffi* en función del contenido de proteínas, los resultados mostraron que no existen diferencias significativas en la mortalidad del parásito ( $p > 0.96$ ) en función del contenido proteico de cada especie (Figura 14, 15 y 16).



FIGURA 14.

Mortalidad de *A. pegreffi* en función del contenido proteico de la merluza, donde “1” significa parásito vivo y con “0” a los parásitos muertos.

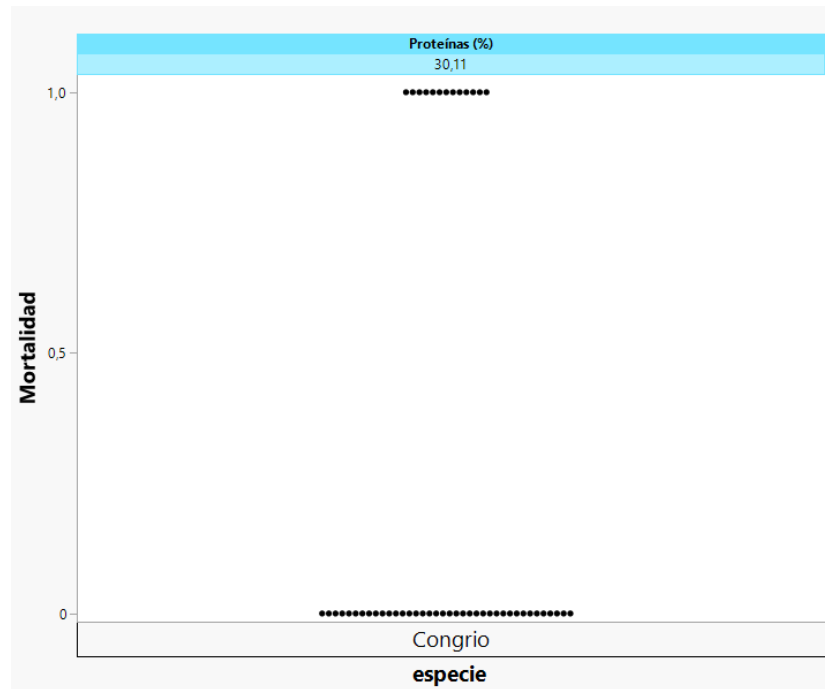


FIGURA 15.

Mortalidad de *A. pegreffi* en función del contenido proteico del congrio colorado, donde “1” significa parásito vivo y con “0” a los parásitos muertos.

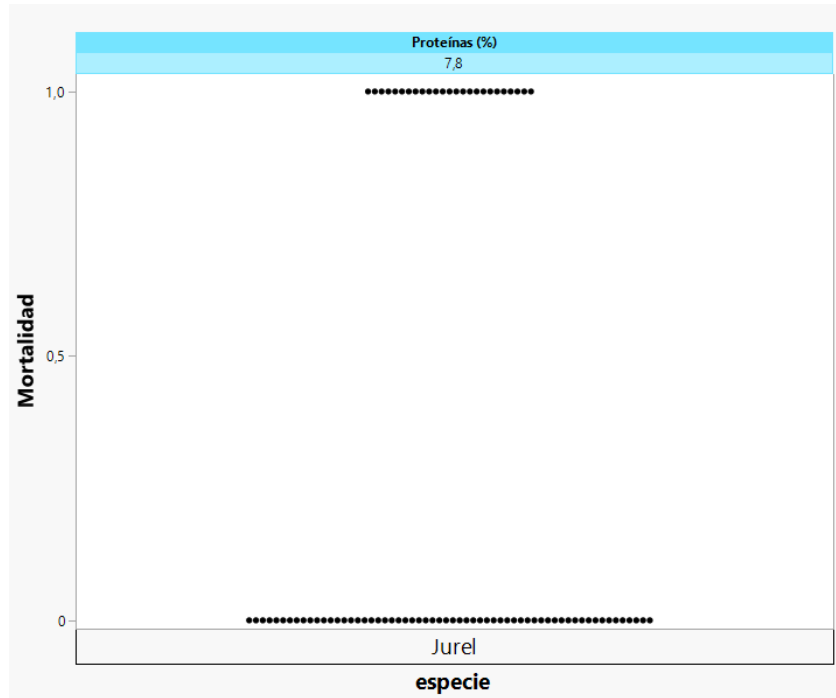


FIGURA 16.

Mortalidad de *A. pegreffi* en función del contenido proteico del jurel, donde “1” significa parásito vivo y con “0” a los parásitos muertos.

## DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluaron un total de 24 filetes por especie. No se detectaron larvas de *Anisakis pegreffii* en la musculatura de reineta (*Brama australis*). La merluza presentó una abundancia promedio de 7,41 larvas por filete, mientras que el congrio colorado albergó 1,6 larvas por filete y el jurel presentó 3,54 larvas por filete. En cuanto a la mortalidad larval en función del tiempo de congelación, las larvas presentes en la musculatura de merluza alcanzaron el 100 % de mortalidad tras 24 h de congelación. En el congrio colorado, la mortalidad total se observó a las 72 h, mientras que en el jurel no se alcanzó una mortalidad del 100 % incluso después de 96 h de congelación. Estos resultados indican diferencias significativas en la mortalidad de las larvas entre especies y en relación con el tiempo de exposición al congelamiento. Respecto a la composición química de la musculatura, la merluza presentó el menor contenido de lípidos en comparación con el jurel. En cuanto al porcentaje de proteínas, el congrio mostró el valor más alto, seguido por la merluza y, finalmente, por el jurel.

En relación con el tiempo de congelación, se observaron diferencias significativas entre las especies evaluadas, las cuales podrían estar relacionadas con la composición química de los filetes. Según los análisis bioquímicos, la merluza presentó el menor porcentaje de lípidos (1,58 %) en comparación con el jurel, que mostró un 2,06 %. Estas diferencias coinciden con los patrones de mortalidad observados: la mortalidad de larvas en merluza alcanzó el 100 % desde las 24 h de congelación, mientras que en el jurel no se alcanzó la mortalidad total incluso después de 96 h. Estudios previos sugieren que el contenido lipídico puede influir en la velocidad de congelación de la carne (Johnston et al. 1994). Por ejemplo, Kumcuoglu et al. (2010), evaluaron la conductividad térmica en carnes magras y grasas, observando que las carnes con menor contenido de grasa se congelan más rápidamente, mientras que aquellas con mayor porcentaje lipídico requieren más tiempo. Por lo tanto, el contenido de lípidos podría determinar indirectamente el tiempo necesario de congelación para garantizar la mortalidad de las larvas de *Anisakis* en la musculatura de los peces.

Por otra parte, no se observaron diferencias significativas en la mortalidad de las larvas en relación con el porcentaje de proteínas presente en la musculatura de los peces. El contenido proteico fue mayor en el congrio (30,11 %), seguido por la merluza (23,2 %) y finalmente el

jurel (7,81 %). A diferencia de los lípidos, los porcentajes de proteína no mostraron una tendencia clara en la mortalidad de *A. pegreffi*, lo que sugiere que las proteínas podrían no ser un factor determinante en esta respuesta. Estudios previos respaldan esta observación. Por ejemplo, Lv et al. (2021), señalan que las propiedades más relevantes en la congelación de la carne son el contenido de agua y de grasa, mientras que las proteínas están asociadas principalmente a la estructura muscular y a la retención de agua, sin influir directamente en la velocidad de congelación. Por lo tanto, es probable que el contenido proteico por sí solo no afecte la eficacia del congelamiento sobre la mortalidad de las larvas de *Anisakis*.

Las larvas presentes en la musculatura de merluza alcanzaron una mortalidad del 100 % tras las primeras 24 h de congelación. Un factor que podría explicar este resultado es la etapa reproductiva de los ejemplares analizados, ya que solo se evaluaron peces post-reproducción. Leonarduzzi et al. (2012) estudiaron los cambios en la composición bioquímica de la merluza común en diferentes estadios reproductivos, observando una disminución del contenido de lípidos (1,3 %) y proteínas (8,6 %) tras la reproducción, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en este estudio. Por lo tanto, la menor disponibilidad de nutrientes, tanto lípidos como proteínas, en la musculatura podría ser un factor determinante que contribuya a la alta mortalidad de *A. pegreffi* en estos peces.

La reineta no presentó larvas de parásitos de *A. pegreffi* en su musculatura. Un factor que podría explicar este resultado es el peso del pez, dado que se ha sugerido que a mayor peso podría existir mayor prevalencia del parásito (Machuca et al. 2021). Sin embargo, Alister (2002) propone que el peso no necesariamente se relaciona con la prevalencia de nemátodos. Otro factor relevante es el ciclo de vida y los hábitos alimentarios de la reineta (Machuca et al. 2021). La reineta realiza migraciones de sur a norte en invierno - primavera para desovar, y de norte a sur en verano - otoño para alimentarse (Machuca et al. 2021). Esta especie realiza migraciones de sur a norte en invierno-primavera para desovar, y de norte a sur en verano-otoño para alimentarse. Durante el periodo de alimentación, factores ambientales como la salinidad y la temperatura del agua influyen en la distribución de su alimento, resultando en una carga parasitaria inferior al 1 %, lo que dificulta el parasitismo por *A. pegreffi* (Machuca et al. 2021). Estudios previos coinciden en que la prevalencia de este nemátodo en reineta es generalmente baja, por lo que la ausencia de larvas en los filetes analizados no resulta sorprendente.

## CONCLUSIONES

- Aunque no se observaron diferencias significativas entre las especies y su composición química, los resultados sugieren que el contenido de lípidos podría influir en el tiempo de congelación necesario para alcanzar el 100 % de mortalidad de *A. pegreffi*.
- El ciclo reproductivo de los peces constituye un factor relevante a considerar en futuras investigaciones, dado que está asociado a cambios en la composición química de la musculatura.
- Los resultados indican que cada especie de pez requiere un tiempo de congelación distinto para garantizar la mortalidad total de las larvas.
- Factores como el contenido de agua en la musculatura y su influencia sobre la velocidad de congelación podrían ser relevantes para estudios posteriores.
- Aunque la reineta no presentó larvas de *A. pegreffi*, no se descarta su presencia en otros contextos; sin embargo, su ausencia en este estudio sugiere que esta especie puede considerarse segura para consumo en preparaciones crudas, como el ceviche.
- La escasez de estudios sobre el riesgo zoonótico asociado al consumo de preparaciones crudas en Chile resalta la importancia de continuar investigando en esta área, y el presente estudio contribuye a proporcionar un primer acercamiento a estos riesgos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcántara Villar M, Sánchez-Guerrero Villajos I, Segura Sánchez C, Serrano Delgado P, Moreno Aguilar C (2015) *Alergología práctica para médicos*. Universidad Internacional de Andalucía, Servicio de Publicaciones, Sevilla. 386 pp.
- Audicana MT, Kennedy MW (2008) *Anisakis simplex* : from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. *Clinical Microbiology Reviews* 21(2): 360-379. DOI: 10.1128/CMR.00012-07.
- Baker DA (2010) Malaria gametocytogenesis. *Molecular and Biochemical Parasitology* 172(2): 57-65. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2010.03.019.
- Bao M, Pierce GJ, Pascual S, González-Muñoz M, Mattiucci S, Mladineo I, Cipriani P, Bušelić I, Strachan NJC (2017) Assessing the risk of an emerging zoonosis of worldwide concern: anisakiasis. *Scientific Reports* 7(1): 43699. DOI: 10.1038/srep43699.
- Basanta M (2024) Modelación de variables de respuesta de conteo con sobredispersión mediante modelos lineales generalizados mixtos. Tesis. Universidad nacional del Comahue, Neuquén. 108 pp.
- Bermejo MC, Clavera I (2007) Epidemiología de la tuberculosis. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra* 30: 07-19.
- Bonilla-Aldana DK, Villamil-Gómez WE, Rabaan AA, Rodríguez-Morales AJ (2020) Una nueva zoonosis viral de preocupación global: COVID-19, enfermedad por coronavirus 2019. *Iatreia* 33(107-110):.
- Bracho Espinoza HR (2018) Análisis Epidemiológico de la anisakiasis y sus vinculaciones económicas y familiares en Venezuela y Latinoamérica. *Revista Arbitrada Interdisciplinaria de Ciencias de la Salud. Salud y Vida* 2(3): 50. DOI: 10.35381/s.v.v2i3.239.
- Brutti A, Rovere P, Cavallero S, D'Amelio S, Danesi P, Arcangeli G (2010) Inactivation of *Anisakis simplex* larvae in raw fish using high hydrostatic pressure treatments. *Food Control* 21(3): 331-333. DOI: 10.1016/j.foodcont.2009.05.013.
- Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW (1997) Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *The Journal of Parasitology* 83(4): 575. DOI: 10.2307/3284227.
- Cabrera R, Del Pilar Trillo-Altamirano M (2004) Anisakidosis: ¿Una zoonosis parasitaria marina desconocida o emergente en el Perú? *Revista de Gastroenterología del Perú* 24(335-342): 9.

- Dabanch P J (2003) Zoonosis. Revista Chilena de Infectología 20: 47-51. DOI: 10.4067/S0716-10182003020100008.
- Galvis Marín JC, Borda Rojas F (2016) Infecciones zoonóticas causadas por levaduras del género *Malassezia*: una revisión. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica 19(2): 381-393.
- Kumcuoglu S, Turgut A, Tavman S (2010) The Effects of temperature and muscle composition on the thermal conductivity of frozen meats: Thermal conductivity of frozen meats. Journal of Food Processing and Preservation 34(3): 425-438. DOI: 10.1111/j.1745-4549.2008.00347.x.
- Leonarduzzi E, Massa A, Manca E (2012) Variación de la composición bioquímica en hembras de merluza común (*Merluccius hubbsi*) durante el ciclo reproductivo. Marine and Fishery Sciences 21: 5-19.
- Lv Y, Chu Y, Zhou P, Mei J, Xie J (2021) Effects of different freezing methods on water distribution, microstructure and protein properties of cuttlefish during the frozen storage. Applied Sciences 11(15): 6866. DOI: 10.3390/app11156866.
- Machuca Á, Quintanilla MS, Cabezas C, Ulloa J, Silva A, Morales P (2021) Parásitos en reinetas (*Brama australis*) comercializadas en la región del Maule, Chile. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 32(1): e17847. DOI: 10.15381/rivep.v32i1.17947.
- Naquira C (2010) Las zoonosis parasitarias: Problema de salud en el Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública 27: 494-497.
- Podolska M, Pawlikowski B, Nadolna-Ałtyn K, Pawlak J, Komar-Szymczak K, Szostakowska B (2019) How effective is freezing at killing *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova krabbei*, and *P. decipiens* larvae? An experimental evaluation of time-temperature conditions. Parasitology Research 118(7): 2139-2147. DOI: 10.1007/s00436-019-06339-1.
- Reyes-Novelo E, Ruíz-Piña H, Escobedo-Ortegón J, Rodríguez-Vivas I, BolioGonzález M, Polanco-Rodríguez Á, Manrique-Saide P (2011) Situación actual y perspectivas para el estudio de las enfermedades zoonóticas emergentes, reemergentes y olvidadas en la Península de Yucatán, México. Tropical and Subtropical Agroecosystems 14(1): 35-54.
- Rossi GAM, Hoppe EGL, Martins AMCV, Prata LF (2014) Zoonoses parasitarias veiculadas por alimentos de origem animal: revisão sobre a situação no Brasil. Arquivos do Instituto Biológico 81(3): 290-298. DOI: 10.1590/1808-1657000742012.
- 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. DOI: 10.3201/eid2810.220627.
- Torres Frenzel P (2013) Parásitos anisákidos en cebiche de merluza, comercializado en las localidades de Valdivia y Niebla, Chile. Tesis Doctoral. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

- Tuемmers C, Nuñez C, Willgert K, Serri M (2014) Anisakiasis y Difilobotriasis. Ictiozoonosis de riesgo para la salud pública asociada al consumo del pescado crudo en Chile. REVISTA DE LA UNIVERSIDAD DEL ZULIA 5(11): 27-39.
- WA J, FJ N, A R, GD S (1994) Freezing and Refrigerated Storage in Fisheries Vol. 340. Food & Agriculture Org. 143 pp.
- Wang L-F, Cramer G (2014) Emerging zoonotic viral diseases. Revue Scientifique et Technique de l'OIE 33(2): 569-581. DOI: 10.20506/rst.33.2.2311.