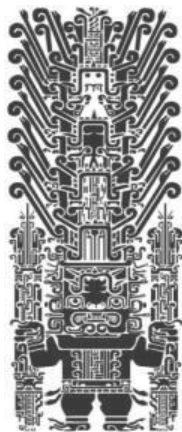


UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



INFORME SEMESTRAL

**Taxonomía integrativa y potencial zoonótico de nematodos de la familia Anisakidae
(Nematoda: Ascaridoidea) parásitos de peces de importancia comercial en la costa
norte del Perú**

Responsable

- **Mg. Gloria María Sáez Flores (Docente UNFV) (ORCID: 0000-0001-9093-0065)**
Código Renacyt: P0023816)
<https://ctivitae.concytec.gob.pe/appDirectorioCTI/Directorioti.do?tipo=datosinvestigador>

Miembro

- **Dr. Jorge Luis López Bulnes (Docente UNFV) (ORCID: 0000-0002-9583-1143)**
Código Renacyt: P0019412)
https://ctivitae.concytec.gob.pe/appDirectorioCTI/VerDatosInvestigador.do?id_investigador=19412

Colaboradores:

- **Dr. Jhon Darly Chero de la Cruz (UNMSM) (ORCID:0000-0003-3633-1365) (Código Renacyt:P0023529)**
http://dina.concytec.gob.pe/appDirectorioCTI/VerDatosInvestigador.do;jsessionid=0a57f731d8f19e91a96dd3446392?id_investigador=23529
- **Alumno: Juniors Edwin Tiraccaya Gamboa (UNFV).**

Lima – Perú
2022

**Línea de Investigación de la UNFV:
N° 3: Microbiología, Parasitología e inmunología**

Taxonomía integrativa y potencial zoonótico de nematodos de la familia Anisakidae (Nematoda: Ascaridoidea) parásitos de peces de importancia comercial en la costa norte del Perú

RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo Evaluar la diversidad y el potencial zoonótico de nematodos de la familia Anisakidae que infectan peces marinos en la costa norte de Perú, desde un enfoque de taxonomía integrativa que conlleva a estudiar aspectos morfológicos, moleculares y de ultraestructura. Como se sabe el consumo humano de la anguila bromista es común en el norte de Perú, se investigó la presencia de larvas de Anisakis L3 en 29 especímenes de la anguila negra *Genypterus maculatus* (Tschudi, 1846) (Ophiidiformes: Ophiididae) capturados frente a la costa del Pacífico sudamericano, Región Lambayeque, Perú. Se recolectaron un total de 20 larvas de Anisakis en la superficie visceral y se dividieron morfológicamente en tres tipos: Tipo I, Tipo II y Tipo 3. Presentamos datos de secuencias de ADNmt para los tres tipos de larvas de Anisakis. Los perfiles genéticos indicaron que las larvas de Anisakis tipo I, tipo II y tipo III podrían identificarse como *A. pegreffii* Campana-Rouget & Biocca, 1955, *A. physeteris* Baylis, 1923 y *A. brevispiculata* Dollfus, 1966, respectivamente. Este es el primer registro de *A. brevispiculata* en Perú. Los resultados obtenidos en este estudio contribuyen a mejorar el conocimiento sobre la diversidad y distribución de las especies de Anisakis en las aguas del Pacífico sudamericano y su relevancia para la salud pública.

PALABRA CLAVE: Anisakis, Taxonomía integrativa, Anguil bromista

SUMMARY

The objective of this work is to evaluate the diversity and zoonotic potential of nematodes of the Anisakidae family that infect marine fish on the north coast of Peru, from an integrative taxonomy approach that leads to studying morphological, molecular and ultrastructural aspects. As is known since human consumption of the cusk-eels is common in northern Peru, we investigated the presence of *Anisakis* L3 larvae in 29 specimens of the black cusk-eel *Genypterus maculatus* (Tschudi, 1846) (Ophiidiformes: Ophiididae) captured off the south American Pacific coast, Lambayeque Region, Peru. A total of 20 *Anisakis* larvae were collected on the visceral surface and divided morphologically into three types: Type I, Type II and Type 3. We present mtDNA sequences data for all three *Anisakis* larva types. The genetic profiles indicated that *Anisakis* Type I, Type II, and Type III larvae could be identified as *A. pegreffii* Campana-Rouget & Biocca, 1955, *A. physeteris* Baylis, 1923, and *A. brevispiculata* Dollfus, 1966, respectively. This is the first record the *A. brevispiculata* in Peru. The results obtained in this study contribute to improve the knowledge on the diversity and distribution of *Anisakis* species in the south American Pacific waters and their relevance for public health.

KEYWORDS: Anisakis, Integrative Taxonomy, Joking Eel

Introducción

Planteamiento del problema

Los nematodos de la familia Anisakidae Railliet & Henry, 1912 son parásitos comunes que parasitan un amplio rango de hospederos vertebrados a nivel mundial, muchos de los cuales exhiben potencial zoonótico. La presencia de larvas de anisákidos en peces es económicamente importante debido al impacto en la calidad del producto (Carvajal & Cattán, 1985). Además, tienen importancia en salud pública, ya que están involucradas en enfermedades que se transmiten a los seres humanos (Cabrera, 2010; Peña & Ríos, 2012). El ciclo biológico de estos tipos de parásitos no es completamente conocido. Sin embargo, se sabe que se trata de ciclos indirectos, con estadios de vida libre, estadios larvarios que parasitan peces o moluscos que pueden actuar como hospederos intermediarios o paraténicos y adultos parásitos en mamíferos marinos que actúan como hospederos definitivos (Ishikura, 1993; Osanz-Mur, 2001).

Las formas adultas de estos nematodos parasitan principalmente aves piscívoras o mamíferos marinos, aunque algunas de ellas pueden parasitar peces pelágicos. Mientras que las larvas son frecuentemente encontradas en peces y son morfológicamente difíciles de identificar a nivel de especie debido a la falta de caracteres diferenciales, que solo aparecen en las formas adultos.

Antecedentes

Anisakidae Railliet & Henry, 1912 (Rhabditida: Ascaridoidea) es una familia de nematodos que infectan a una amplia gama de hospederos pertenecientes a todos los grupos de vertebrados, sus estadios larvales tienen importancia en la salud del hombre y de los hospederos (Anderson, 2000).

Antiguamente, las larvas de *Anisakis* Dujardin, 1845 que infectan peces marinos eran asignados como *Anisakis* tipo I y *Anisakis* tipo II, diferenciándose por las características morfológicas del ventrículo y por la presencia o ausencia de un mucrón (Osanz-Mur, 2001; Saad & Luque, 2012). Recientes investigaciones basados en datos moleculares indican que estos dos morfotipos de larvas forman un complejo de especies, y por tanto el uso de caracteres morfológicos no permite asociar uno de los tipos de larvas con una sola especie (Saad & Luque, 2012).

La identificación de las larvas de anisákidos colectadas en peces marinos se basaba en la morfología del tracto gastrointestinal (Ventrículo largo o corto, ausencia de ciego intestinal y apéndice ventricular), posición del diente larval, localización del poro excretor y morfología de la cola con o sin típico mucrón terminal (Felizardo et al., 2009; Saad & Luque, 2012; Pantoja et al., 2015).

Especies de *Anisakis* correspondientes al estadio L3 han sido identificadas en Perú como pertenecientes a *Anisakis simplex* Rudolphi, 1809 por presentar un ventrículo largo con la unión ventrículo-intestinal oblicua y una cola redondeada, corta y con una espina terminal y *Anisakis physeteris* Baylis, 1923 por presentar el ventrículo corto con una unión horizontal al intestino y una cola larga, puntiaguda y sin espina terminal (Osanz-Mur, 2001; Felizardo et al., 2009; Saad & Luque, 2012). Recientes estudios moleculares indican la presencia de dos especies de *Anisakis* en la costa peruana, *Anisakis pegreffii* y *Anisakis* sp. infectando peces comerciales de la costa peruana. Estas dos larvas son encontradas rodeadas de un quiste translucido formado de tejido conjuntivo sobre la superficie del hígado y ciegos intestinales (Alburqueque et al., 2020). Larvas de *Anisakis* han sido recuperadas de la superficie visceral de varias especies de peces teleósteos marinos y una especie de molusco de importancia económica en la costa del Perú (Cabrera et al., 2004; Sarmiento et al., 1999;

Iannacone y Alvarino, 2009; Céspedes et al., 2011; Chero et al., 2014; Cruces et al., 2014; Ñacari & Sánchez, 2014). Adicionalmente, nuestro grupo de investigación ha encontrado una larva de *Contracaecum*, a la cual se le caracterizo en base a datos morfológicos y moleculares identificándola como *Contracaecum multipapillatum*, su publicación está en curso.

Justificación e importancia del estudio

Este proyecto de taxonomía integrativa de anisákidos de la costa norte de Perú tiene importancia médica, médica veterinaria y económica, además de gran valor taxonómico y contribución al enriquecimiento del conocimiento de la biodiversidad peruana.

Con el aumento del número de casos de anisakidosis en todo el mundo, es fundamental identificar los anisákidos que se encuentran en la costa peruana a nivel de especie, ya que algunas especies son potencialmente capaces de desencadenar la enfermedad en humanos, e incluso, en ocasiones, causar condiciones severas. reacciones alérgicas. Además de estar asociados a la mortalidad de los peces, estos helmintos provocan lesiones en los tejidos que hacen inviable la comercialización del pescado, provocando enormes pérdidas económicas para la industria pesquera. La identificación taxonómica y el diagnóstico adecuado son el primer paso hacia la vigilancia y el control de parásitos.

La importancia taxonómica proviene de la aplicación de varios marcadores genéticos que son lo suficientemente informativos para determinar la especie de estos helmintos, es decir, para establecer los patrones de código de barras de ADN de la especie. La determinación de estos patrones permitirá discernir problemas taxonómicos presentados por la inconsistencia de caracteres morfológicos, como por la ausencia de los mismos en

determinadas etapas del ciclo biológico. La identificación de los parásitos también contribuirá a una mejor comprensión de la distribución y ecología de estos parásitos, ya que hasta ahora solo dos especies han sido identificadas genéticamente en Perú.

Marco teórico

Los parásitos como protistas, helmintos, artrópodos, crustáceos, etc. son piezas clave en la biodiversidad en diferentes ecosistemas debido al papel regulador que muchos helmintos tienen sobre las poblaciones de sus hospederos constituyéndose una pieza importante en la estructuración de sus comunidades (Luque, 2008). Muchos de estos endoparásitos helmintos son grupo polifilético representado a los phyla Platyhelminthes (Digenea, Aspidogastrea, Monogenea y Cestoda), Acanthocephala, Nematoda y Annelida (Hirudinea). La clasificación de platelmintos se basan en observación y medición de órganos reproductores , basados en número, tamaño y posición relativas en el cuerpo, aunque los grupos taxonómicos , ahora se basan principalmente en caracteres ultra estructurales y moleculares.

El estudio de los parásitos como componente de la biodiversidad es una rama que poco a poco ha tomado mayor auge (Brooks & McLennan, 1991). Recientemente se ha considerado a los helmintos como un grupo potencialmente útil en estudios de calidad ambiental como bioindicadores (Pulido & Monks, 2008). Además, algunos helmintos pueden tener cierto interés desde el punto de vista médico, pues pueden ser causantes de ciertos tipos de afecciones en el hombre. En el mar peruano habita una gran variedad de especies de peces, con mucho valor comercial, además indispensable en la dieta humana; Sin embargo, el conocimiento de la composición de su fauna helmintológica se conoce muy poco, pese a que en los últimos quince años se han podido conocer y describir algunos de

ellos, siendo uno de los principales problemas la identificación del estado larval, ya que necesita ver el estudio morfología además acudir a estudios de tipo molecular. El parasitismo en peces ocasiona pérdidas socioeconómicas, ya sea por la transmisión al humano de patógenos de importancia en salud pública como el *Anisakis sp* y *Diphyllobothrium pacificum*, en su estado larval y también pueden ocasionar el deterioro o daño del producto, el cual debe ser descartado de las líneas de comercio o producción, según lo establece la normativa sanitaria vigente (Serrano, E., Quispe M., Hinostroza, E. & Plasencia, L,2017). En Perú, la pesca industrial ha sido tradicionalmente a base de especies pelágicas marinas, constituidas principalmente por anchoveta (*Engraulis ringens*), así como en otras especies de peces como el jurel (*Trachurus murphyi*), caballa (*Scomber japonicus*),y bonito del Pacífico (*Sarda chilensis*) (Alburqueque,R., Palomba,M., Santoro, M.,& Mattiucci, S.(2020) .

La identificación en los nematodos se deben centrar en la parte morfológica de las estructuras reproductivas , incluidas los extremos posteriores de los machos , también las papilas sensoriales y otras características cuticulares que pueden ser visualizado en el extremo anterior (cabeza) como expansiones cuticulares así también alrededor de la boca

Las técnicas moleculares utilizadas en sistemática pueden involucrar isoenzimas (enzimas que catalizan la misma reacción pero cuyos genes que las codifican se encuentran en diferentes loci), aloenzimas (enzimas codificadas para por alelos), RFLP (polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción o patrones de bandas producidos en un gel electroforético por fragmentos de ADN resultantes de la digestión con endonucleasas de restricción) o secuencias de bases en secuencias de ADN para una variedad de genes. Todos estos materiales proporcionan información sobre la composición genética y, por lo tanto,

pueden usarse para caracterizar taxones. La comparación de secuencias de bases también se utiliza para construir filogenias tanto de huéspedes como de parásitos, lo que permite a los parasitólogos estudiar la coevolución, la colonización de huéspedes en el sentido evolutivo y la biogeografía de las asociaciones huésped-parásito. (Roberts & Janovy, 2005)

Objetivo

Objetivo general

➤ Evaluar la diversidad y el potencial zoonótico de nematodos de la familia Anisakidae que infectan peces marinos en la costa norte de Perú, desde un enfoque de taxonomía integrativa (aspectos morfológicos, moleculares y de ultraestructura).

Objetivos específicos

➤ Aislar larvas de la familia Anisakidae de peces marinos con importancia económica en la costa norte de Perú.

➤ Identificar morfológicamente los nematodos anisákidos a través de claves de identificación taxonómica con la ayuda de microscopía óptica y electrónica de barrido.

➤ Caracterizar genéticamente los nematodos a través de la secuenciación parcial de gen Cox 1 (ADNmt).

➤ Comparar las secuencias por similitud de los anisákidos encontrados en la costa norte de Perú con las secuencias de nematodos del mismo grupo depositadas en GenBank.

➤ Construir árboles filogenéticos de las especies secuenciadas y analizar la filogenia del grupo.

Métodos

Universo y muestra

La población comprende un total de 99 individuos de peces, adquiridos directamente de la caleta Santa Rosa, Chiclayo, Norte de Perú, perteneciente a 10 especies, seis familias y tres órdenes los que fueron identificados a un espécimen de *Nebris occidentalis*, 3 *Sciæna deliciosa*, 32 *Pontinus dubius*, 8 *Sciaena callaensis*, 7 *Diapterus brevirostris*, 3 *Centropomus unionensis*, 6 *Kyphosus vaigensis*, 5 *Polydactylus approximans*, 5 *Polydactylus opercularis*, 29 *Genipterus maculatus* (Tabla 1). De estas especies de peces se lograron aislar un total de 25 larvas de nematodos de la familia Anisakidae

Diseño de estudio y Variables.

El estudio es prospectivo, de diseño observacional, descriptivo, diacrónico, enfoque cuantitativo, se realizó en el laboratorio de Parasitología e investigación de la FCCNM-UNFV.

Variable dependiente: nematodos parásitos de pece colectados.

Variable independiente: caracterización morfológica y molecular.

Instrumentos

Ficha de parámetros morfológicos donde se tomaron los datos como el número y nombre de las especies de huéspedes y el número de parásitos encontrados.

Se empleó para la identificación de los huéspedes u hospedero la clave de identificación taxonómica.

Equipos: Microscopio de luz, Estereoscopio, balanza, calibrador Vernier, Microscopio Electrónico, termociclador

Procedimiento

Colecta de peces hospederos

En hojas de campo, se anotaron las características morfológicas como parámetros morfométricos: longitud total (LT) y la identificación de los peces se realizó empleando claves de identificación taxonómica de peces marinos de Perú (Chirichigno & Vélez, 1998). Los peces fueron evaluados empleando un microscopio estereoscópico de disección para la búsqueda de nematodos a nivel externo e interno de las vísceras de los peces muestreados.

Colecta de Parásitos y análisis morfológico

Las larvas de anisákidos fueron aislados a partir de la musculatura o superficie visceral de los peces hospederos y fueron colocadas en placas de Petri con agua de mar y fijadas en alcohol al 80% caliente. En el laboratorio, los nematodos fueron cortados en 3 pedazos. Las partes anterior y posterior fueron usadas para la identificación morfológica. Las partes medias fueron colocadas en alcohol al 100% para su uso en procedimientos moleculares. Los nematodos fueron aclarados en lactofenol o alcohol fenol para su observación y medición con un microscopio óptico. Los nematodos fueron fotografiados con ayuda de un microscopio Nikon con cámara incorporada. Todos los análisis morfológicos fueron llevados a cabo en el Laboratorio de Zoología de Invertebrados, UNMSM.

Análisis de ultraestructura

Algunas larvas de nematodos colectadas fueron fijadas para el análisis de microscopio electrónico de barrido (MEB) que se realizó en el Laboratorio de Equipamiento Especializado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación de ADN

Preparación y extracción de ADN de las muestras: Los nematodos fueron colocados en buffer de lisis (ATL buffer, QIAGEN). Se seccionaron partes de la muestra y procedió con la extracción del ADN genómico usando el Genomic DNA Mini Kit (Tissue) (Geneaid Biotech Ltd., Taiwan), de acuerdo con el protocolo del kit. El ADN se eluyó en 50 µl de buffer de elución y se almacenó a -20°C.

Amplificación del fragmento del gen mitocondrial Citocromo C Oxidasa I (CO1): Se empleó el siguiente par de cebadores: 211F (5'-TTTTCTAGTTATATAGATTGRTTYAT-3') y 210R (5'-CACCAACTCTTAAAATTATC-3') (Zhu et al., 1998). Las reacciones de PCR fueron realizadas de acuerdo a Pantoja *et al.* (2015). Los productos de PCR serán visualizados con tinción de Sybergreen (Invitrogen, Eugene, Oregon, EUA). Los productos amplificados serán purificados con el kit Exo-SAP-IT (GE Healthcare Life Sciences) siguiendo las instrucciones del fabricante, y serán secuenciados utilizando los mismos iniciadores de reacciones de PCR y el kit de reacción de secuenciación ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Terminator (Applied Biosystems-Perkin Elmer) en un secuenciador MegaBACE (GE Healthcare Life Science). Las secuencias contiguas fueron ensambladas en Geneious y serán depositadas en GenBank.

Análisis moleculares

Las secuencias fueron alineadas con Clustal W en MEGA 7.0. Los árboles filogenéticos fueron construidos en base a Máxima verosimilitud (ML).

Resultados

Análisis morfológico

Un total de 99 peces perteneciente a 10 especies, seis familias y tres órdenes fueron identificados empleando claves taxonómicas. La composición de las especies de peces con más representación fue *Pontinus dubius*, constituyendo el 35.5% de los peces con 32 individuos colectados, *Genypterus maculatus* constituye el 29.3% de los peces con 29 individuos colectados (Tabla 1).

Tabla 1

Especies de peces colectados de la caleta de Santa Rosa, Chiclayo, Lambayeque, Perú.

N = Numero de peces colectados. % = Porcentaje de peces colectados

Especies	Orden	Familia	N	%
<i>Nebris occidentalis</i>	Perciformes	Scombridae	1	1
<i>Sciaena deliciosa</i>	Perciformes	Scombridae	3	3
<i>Pontinus dubius</i>	Scorpaeniformes	Scorpaenidae	32	35.5
<i>Sciaena callaensis</i>	Perciformes	Scombridae	8	8
<i>Diapterus brevirostris</i>	Perciformes	Gerreidae	7	7
<i>Centropomus unionensis</i>	Perciformes	Centropomidae	3	3
<i>Kyphosus vaigensis</i>	Perciformes	Kyphosidae	6	6
<i>Polydactylus approximans</i>	Perciformes	Polynemidae	5	5
<i>Polydactylus opercularis</i>	Perciformes	Polynemidae	5	5
<i>Genypterus maculatus</i>	Ophidiiformes	Ophidiidae	29	29.3

Un total de 58 larvas de anisákidos fueron colectados y mediante caracteres morfológicos fueron identificados pertenecientes al género *Anisakis* Dujardin, 1845 (3 morfoespecies) (Tabla 2). En la identificación de morfotipos se han tomado en cuenta el tamaño y la ubicación del ventrículo, la morfología de la región posterior, con punta redondeada y con o sin presencia de micrón.

Tabla 2.

Especie de anisákidos colectados de peces marinos de la zona costera del Puerto Eten, Chiclayo, Lambayeque, Perú. P = Prevalencia. N = Número de parásitos.

Parásito	Estadio (L3)	Hospedero	N	P
<i>Anisakis</i> sp1.		<i>Genypterus maculatus</i>	8	40
<i>Anisakis</i> sp2		<i>Genypterus maculatus</i>	2	10
<i>Anisakis</i> sp3		<i>Genypterus maculatus</i>	10	50

Tabla 3.

Morfotipo de los Anisakidos obtenidos de *Genypterus maculatus* colectados de peces marinos de la zona costera de la caleta de Santa Rosa, Chiclayo, Lambayeque, Perú.

U de M: unidad de medida

Morfotipo	/	SP1	SP2	SP3
Característica				
Longitud total		26-27	20	20-34
Ancho máximo				
Longitud esófago		1.6-1.7	1.5	2.7-5
Longitud ventrículo		546-665	422	620-1122

Ancho ventrículo	421-560	340	349-400
Ancho esófago	216-556	228	276-301
Anillo nervioso	320-305	272	202-362
Mucrón	NE	P	NE
Longitud mucrón	NE	NE	26
Cola	98	113	139-285



Figura 1. *Anisakis* sp1. de *Genypterus maculatus*. Extremo anterior y posterior.

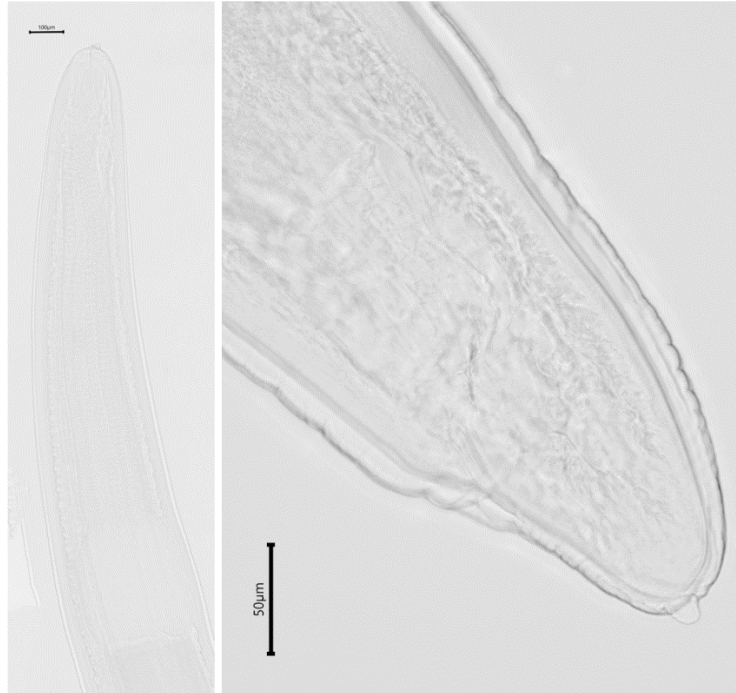


Figura 2. *Anisakis* sp2. de *Genypterus maculatus*. Extremo anterior y posterior.

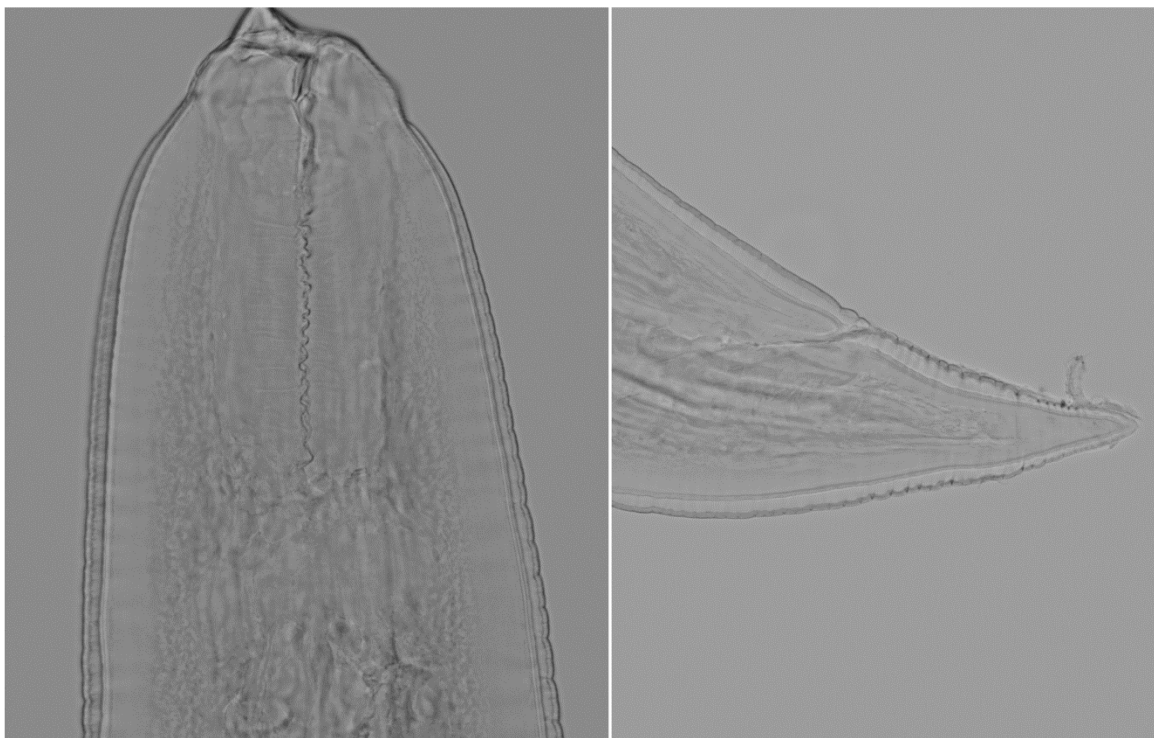


Figura 3. *Anisakis* sp3. de *Genypterus maculatus*. Extremo anterior y posterior.

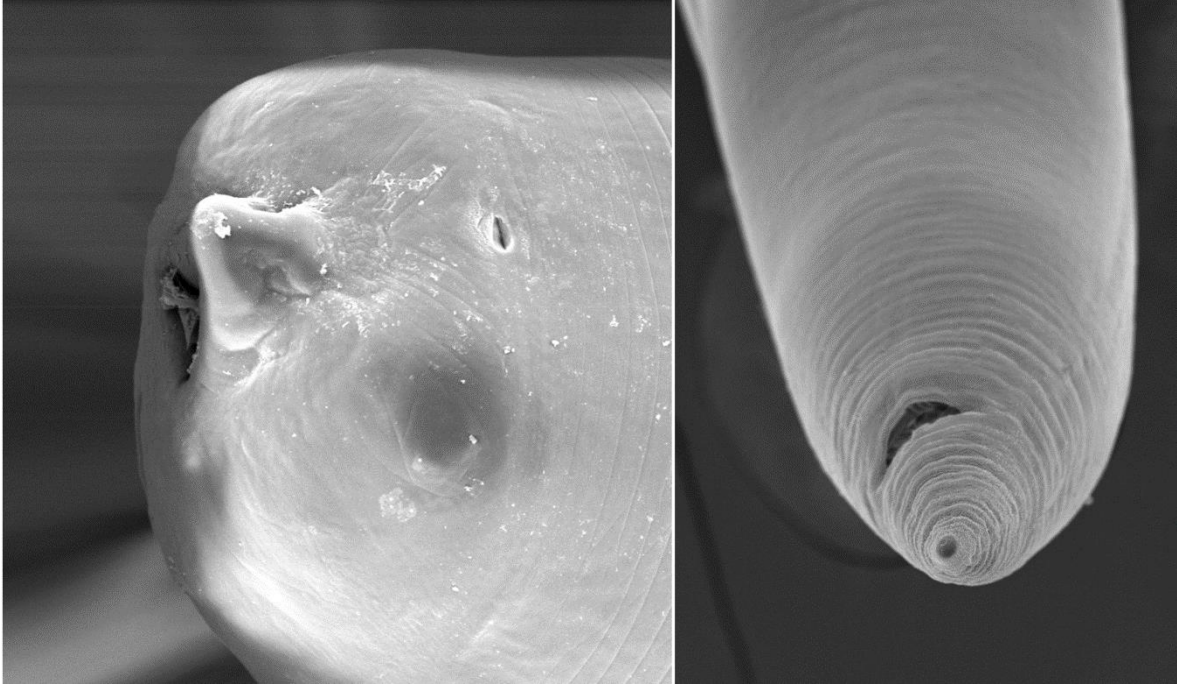


Figura 4. *Anisakis* sp3. de *Genypterus maculatus*. Extremo anterior y posterior.

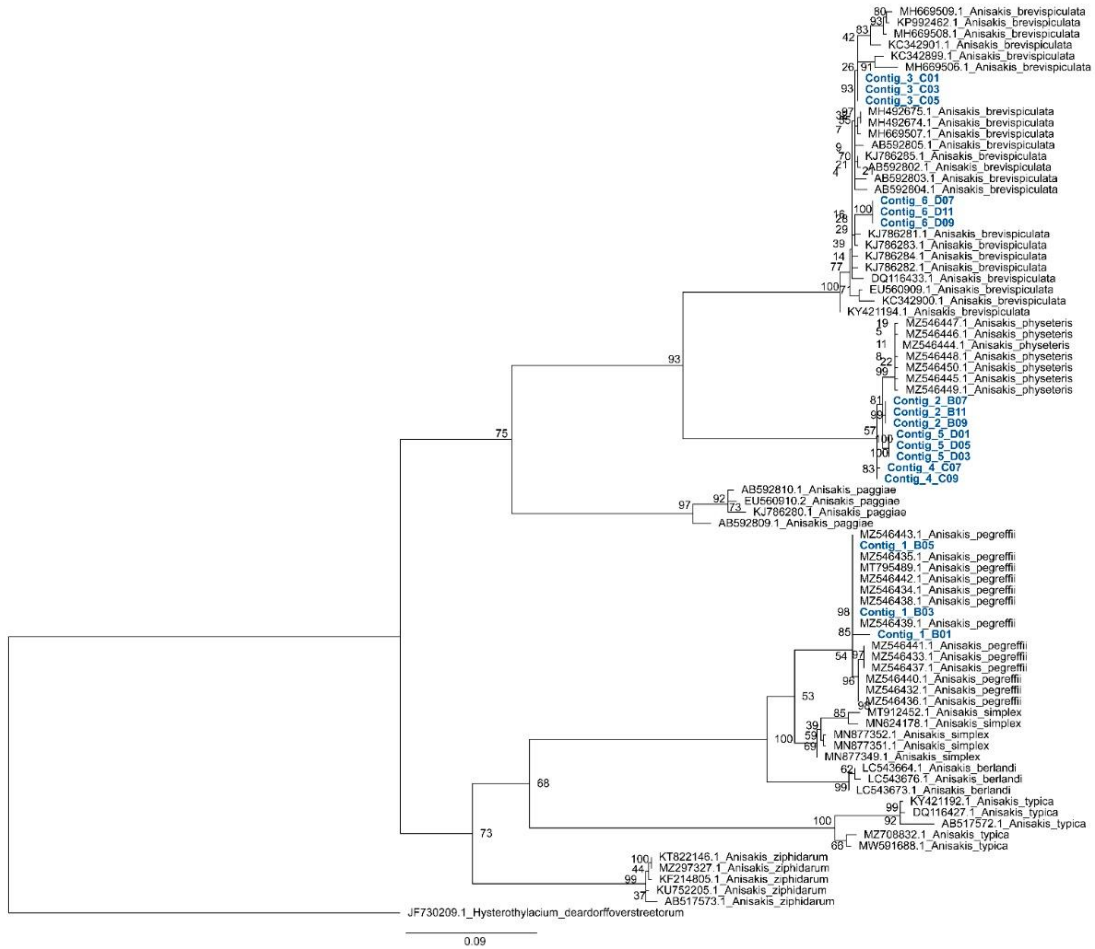


Figura 5. Arbol filogenetico (Maxima verosimilitud) de las tres especies de *Anisakis* (*A. pegreffii*, *A. physeteris* y *A. brevispiculata*) encontradas en *Genypterus maculatus*.

Análisis molecular

El árbol de máxima verosimilitud basados en las mtDNA *Cox2* secuencias de los tres morfotipos *Anisakis* sp1., *Anisakis* sp2. y *Anisakis* sp3. permitió identificarlos como *A. brevispiculata*, *A. pegreffii*, *A. physeteris* y respectivamente.

DISCUSIONES

Hasta hace 10 años, especies de *Anisakis* Dujardin, 1845 en Perú eran asociadas a dos tipos de larvas: *Anisakis* tipo I y *Anisakis* tipo II, diferenciadas por las características morfométricas del esófago glandular (ventrículo) y por la presencia o ausencia de un mucrón (Osanz-Mur, 2001). Recientes estudios basados en características moleculares indican que estos dos tipos de larvas de *Anisakis* correspondían a *Anisakis simplex* y *Anisakis pegreffii*.

La identificación de las larvas L3 de *Anisakis* colectadas en *Genypterus maculatus* se basó en las características del tracto gastrointestinal (longitud del ventrículo), y presencia o ausencia de mucrón terminal (Pantoja *et al.*, 2015). Los nematodos descritos aquí son formas larvarias correspondientes al estadio L3 de tres especies de *Anisakis* y han sido identificadas en base a caracteres morfológicos y moleculares como *A. brevispiculata*, *A. pegreffii*, *A. physeteris*. *Anisakis brevispiculata* es reportada por primera vez en Perú. Estas tres larvas fueron encontradas enquistadas sobre la superficie de los ciegos.

Miembros del género *Anisakis* son parásitos comunes de organismos marinos a nivel mundial. Los estadios larvales de *Anisakis* encontrados en peces son económicamente relevantes debido al impacto en el producto pesquero (Osanz-Mur, 2001). Además, de poseer importancia en salud pública, ya pueden transmitirse a los seres humanos por vía oral (Osanz-Mur, 2001).

CONCLUSIONES

La técnica de DNA barcoding ayudó a identificar a nivel de especie con bastante precisión, con mayor al 98% de identidad las diferentes especies de *Anisakis* por análisis de una región del gen *cox2*. Las lecturas de los datos crudos en AB1 tuvieron alta calidad, dando mayor

confianza a los resultados por comparación BLAST.

Este es el primer registro de *A. brevispiculata* en Perú. Los resultados obtenidos en este estudio aportan el conocimiento sobre la diversidad y distribución de las especies de *Anisakis* en las aguas del Pacífico sudamericano y su relevancia para la salud pública.

RECOMENDACIONES

Se recomienda hacer más estudios con mayor número de pescados y variedad en la zona norte del Perú, ya que los resultados obtenidos en este estudio son muy alentadores contribuyendo a mejorar el conocimiento sobre la diversidad y distribución de las especies de *Anisakis* en las aguas del Pacífico sudamericano y su relevancia para la salud pública.

Se debe continuar con trabajos similares utilizando base de datos GenBank que contiene secuencias genéticas utilizada para la identificación de especies y su comparación en análisis filogenéticos

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Alburquerque R. A., 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: 910.

Anderson, R.C. (2000). Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission. *2nd Edition, Waligford, UK, Cabi Publishing*. 650 pp.

- Billings, N., Yu, X., Teel, P., & Walker, A. (1998). Detection of a spotted fever group rickettsia in *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) in South Texas. *Journal of Medical Entomology* 35: 474– 478.
- Bush, A., Lafferty, K., Lotz, M. & Shostak, A. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *The journal of parasitology*, 83:575-883
- Carvajal, J. y Cattán, PE (1985). Estudio de la infección por anisakidos en el haje chileno, *Merluccius gayi* (Guichenot, 1848) *Investigación pesquera* 3:245-250
- Cabrera, R. y Trillo-Altamirano, M. del P. (2004). Anisakidosis: ¿una zoonosis parasitaria marina desconocida o emergente en el Perú? *Rev. Gastroenterol. Perú* 24(4): 335-342
- Cabrera, R. (2010). Anisakiasis outbreak by *Anisakis simplex* larvae associated to Peruvian food in Spain. *102(10): 610-611*
- Céspedes, R., Iannaccone, J., & Salas, A. (2011). Helmintos parásitos de *Dosidicus gigas* "Pota" eviscerada en Arequipa, Perú. *Ecología aplicada* 10(1): 1-11
- Chero, J., Sáez G., Iannaccone, J. y Aquino W. (2014). Aspectos ecológicos de los helmintos parásitos de lorna *Sciaena deliciosa* (Tschudi, 1846) (Perciformes: Sciaenidae) adquiridos del terminal pesquero de Ventanilla, Callao, Perú. *Neotropical Helminthology*, 8: 59-76.
- Chirichigno, N. F., y Cornejo, R. M. (2001). Catálogo comentado de los peces marinos del Perú. Instituto del mar del Perú, 314p.
- Cruces, C., Chero J., Iannaccone, J., Diestro, A., Sáez G. y Alvariano, L. (2014). Metazoans parasites of “chub mackerel” *Scomber japonicus* Houttuyn, 1782 (Perciformes: Scombridae) at the port of Chicama, La Libertad, Peru. *Neotropical Helminthology*, 8: 357-381.

- Felizardo, N., Knoff M., Pinto R., & Gomes, D. (2009). Larval anisakid nematodes of the flounder, *Paralichthys isosceles* Jordan, 1890 (Pisces: teleostei) from Brazil. *Neotrop. Helminthol.*, 3(2), 2009
- Iannacone, J, y Alvarino L. (2009). Metazoos parásitos de *Mugil cephalus* Linnaeus, 1758 (Mugilidae: Perciformes) procedentes del Terminal Pesquero de Chorrillos, Lima, Perú. *Neotropical Helminthology*, 3: 15-28.
- Ishikura H., Kikuchi K., Nagasawa K., Ooiwa, T., Sato, N., & Sugame, K. (1993). Anisakidae and anisakidosis. *Prog Clin Parasitol* 3:43-102.
- Ñacari, L, & Sánchez, L. (2014). Helminth fauna of *Peprilus snyderi* Gilbert & Starks, 1904 (Stromateidae) of Chorrillos fishmarket, Lima, Peru. *Neotropical Helminthology*, 8: 1 - 17.
- Osanz, A. (2001). Presencia de larvas de Anisákidos (Nematoda: Ascaridoidea) en pescado de consumo capturado en la zona pesquera de Tarrogon. Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma de Barcelona Facultad de Veterinaria, España.
- Pantoja, CS., Borges JN., Santos CP. y Luque, JL. (2015). Caracterización molecular y morfológica de larvas de nematodos anisákidos de los correlimos *Pseudopercis numida* y *Pinguipes brasiliensis* (Perciformes: Pinguipedidae) frente a Brasil. *J Parasitol* (2015) 101 (4): 492–499.
- Peña, P., & Ríos, P. (2012). Use of negative binomial distribution to describe the presence of Anisakis in *Thyrsites atun*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, Jaboticabal, 21(1) 78-80
- Saad, C., Vieira, F. & Luque, J. (2012). Larvae of anisakidae skrjabin & karokhin, 1945 (nematoda, ascaridoidea) in *Lophius gastrophysus* Miranda-Ribeiro, 1915

(actinopterygii, lophiidae) from the coastal zone of the state of rio de janeiro,
brazil Neotrop. Helminthol., 6(2) 159 - 177

Sarmiento, L., Tantaleán, M. y Huiza., A. (1999). Nemátodos parásitos del hombre y de los animales en el Perú. Revista Peruana de Parasitología, 14: 9-65.

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