5

LETI's SCIENTIFIC SERVICES

COLECCIÓN
LETITRAIN

¿Hay más vida en el pescado? 20 años con 'Anisakis'

LETI

www.leti.com/zonaprofesional

COLECCIÓN
LETITRAIN

¿Hay más vida en el pescado?

20 años con 'Anisakis'

María Teresa Audicana Berasategui

© 2015, Laboratorios Leti
Realización editorial, Traducciones Lexic S.L.
Passeig del Ferrocarril, 339, 2º 4ª - 08860 Castelldefels (Barcelona), España.

¿Hay más vida en el pescado?

20 años con 'Anisakis'

ÍNDICE

Índice

1. Introducción: parásitos y pescados 3

1.1. Trematodos 9

1.2. Cestodos 12

1.3. Microsporidia 14

1.4. Nematodos 14

1.5. Globalización y zoonosis 16

2. Características del 'Anisakis' 21

2.1. Características taxonómicas y morfológicas 21

2.2. Ciclo biológico 28

3. Prevalencia y epidemiología 39

3.1. Epidemiología de parasitación por anisákidos 39

3.2. Prevalencia de parasitación de pescados por anisákidos 45

3.3. Platos de pescado que entrañan riesgo de adquirir parasitación por anisákidos 52

3.4. Epidemiología y prevalencia de alergia por anisákidos 55

3.4.1. Anisakiasis y alergia relacionada 55
3.4.2. Prevalencia de sensibilización 55
3.4.3. Prevalencia de alergia 57

4. Clínica: De la parasitación anecdótica a un alérgeno estándar 61
4.1. Los parásitos y la respuesta IgE 61
4.2. Los anisákidos y las enfermedades que producen 65
4.2.1. Parasitación o infestación denominada anisakiasis o anisakidosis 66
4.2. 2. La anisakidosis gastroalérgica o gastroalergia 75
4.2.3. Alergia a 'A. simplex' ingerido con los alimentos: urticaria y anafilaxia 78
4.2.4. Exposición antigénica a través de productos derivados de la pesca 90
4.2.5. Otras enfermedades asociadas a la exposición a 'A. simplex' 91
4.3. Factores moduladores de la reacción alérgica: cofactores 95
4.4. ¿'A. simplex' vivo o muerto? La controversia está servida 98
4.5. Urticaria crónica y exposición a 'A. simplex'. Sigue la controversia 99

5. Alérgenos **103**
5.1. Alérgenos de 'Anisakis' **103**
5.1.1. Tipos de antígenos **103**
5.1.2. Fuentes alergénicas **106**
5.1.3. Descripción antigénica **107**
5.2. Reactividad cruzada **116**

6. Diagnóstico **125**
6.1. Parasitación **125**
6.1.1. Endoscopia **125**
6.1.2. Diagnóstico anatomopatológico **127**
6.1.3. Radiología **128**
6.1.4. Serología **133**
6. 2. Diagnóstico de alergia a 'Anisakis' **135**
6.2.1. Pruebas cutáneas **136**
6.2.2. Determinación de IgE específica **137**
6.2.3. Provocación oral con larvas liofilizadas de 'A. simplex' **139**
6.2.4. Pruebas de exposición conjuntival y bronquial **140**
6.2.5. Prueba del frotamiento (*rubbing*) y pruebas en parche **140**
6.2.6. Otras pruebas in vitro **141**

7. Tratamiento y prevención: Factores de riesgo **149**

7.1. Tratamiento de la parasitación 149
7.2. Tratamiento de alergia al 'Anisakis' 150
7.3. Prevención 151
7.3.1. Prevención de parasitación 151
7.3.2. Prevención de alergia al 'Anisakis' 158
7.4. Factores de riesgo de alergia a 'Anisakis' 162
7.5. Medidas que garantizan la muerte larvaria 164
7.5.1. Tratamientos que aseguran la muerte larvaria 165
7.5.2. Tratamientos tecnológicos aplicados para la inactivación de las larvas de 'Anisakis' en pescado 168
7.6. Otras posibles medidas de futuro 173
7.6.1. Tratamientos que reduzcan la alergenicidad 173
7.6.2. Vacunas frente a 'Anisakis'. ¿Los parásitos beneficiosos? 173

8. Conclusiones generales y nuevos retos 177

9. Bibliografía 183

10. Autora 205

11. Notas 211

1

INTRODUCCIÓN: PARÁSITOS Y PESCADOS

1. INTRODUCCIÓN: PARÁSITOS Y PESCADOS

Durante milenios, los humanos hemos consumido pescados y productos derivados de la pesca con la intención de alimentarnos. El consumo de pescado per cápita según las estadísticas de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO) de 2007[1], se estima en 17 kg. La relevancia de la pesca y acuicultura en la economía de la Unión Europea (UE) es muy alta: representa aproximadamente 20.000 millones de euros por año. Concretamente la acuicultura representa el 19% del total de la producción de pescado en la UE y la demanda no está cubierta por los productores locales, lo que obliga a importar pescado procedente de China, el país más exportador, Noruega y Tailandia (con 10.000, 7.000 y 6.500 millones de euros por año, respectivamente).

En las últimas décadas se ha descrito un incremento de enfermedades derivadas de los parásitos del pescado, que con-

sisten tanto en infestaciones como en reacciones alérgicas al propio parásito.

Por **parasitismo** entendemos el comportamiento de los individuos vivos que dependen de otros seres vivos "comiendo al lado de estos", en el mismo plato; (*para sitein* = se nutre al lado). Los individuos que permiten la vida a los parásitos se convierten en hospedadores de estos parásitos. Los mismos mamíferos son parásitos de su madre durante todo el curso de la vida intrauterina (parasitismo proteliano). Sin embargo, en biología y medicina solamente se incluyen como parásitos a los individuos de naturaleza animal y ciertos hongos inferiores. Se excluyen del dominio de la parasitología tanto los virus como las bacterias, aunque tengan una vida parásita en los humanos. Los parásitos suelen estar adaptados a una o varias especies de hospedadores que permiten su completo desarrollo. El hospedador en el cual el parásito adquiere su madurez se denomina hospedador definitivo, y el resto de hospedadores, en los cuales se generan estados inmaduros, se denominan hospedadores intermediarios. Cuando una forma inmadura se aloja en un hospedador para, al ser este devorado, llegar al hospedador definitivo, se denomina hospedador paraténico (*parateinein*, se dirige al lado), es el concepto de "hospedador en espera". El hombre como hospedador definitivo es eficaz en el parasitismo, pero como hospedador intermediario se convierte en un fondo de saco evolutivo, ya que cuando el hospedador humano debería ser depredado el ciclo se interrumpe.

Las enfermedades parasitarias inducidas por alimentos, como la triquinellosis y la cisticercosis, tradicionalmente se habían relacionado con el consumo de carne. En cambio, las ocasionadas por pescados, hasta las últimas décadas, no habían despertado tanto interés[2]. Dentro de la especialidad de alergología, es conocida la relación de la tenia *Echinococcus granulosus* con episodios de urticaria o anafilaxia por rotura de quistes, ya sea intraoperatoria, secundaria a traumatismos, o, con menos frecuencia, espontánea. En España y los países mediterráneos, la parasitación por esta tenia se considera dentro de los agentes etiológicos a valorar en el diagnóstico diferencial de urticaria/angioedema y/o anafilaxia inexplicadas.

Entre las enfermedades transmitidas por pescados se encuentran enfermedades como opistorquiasis, trematodiasis, anisakiasis y difilobotriasis, entre otras. La **tabla 1** nos muestra las características de las principales parasitosis transmitidas por pescados.

Por parasitismo entendemos el comportamiento de individuos del reino animal o fungi que dependen de otros seres vivos. El hospedador en el cual el parásito adquiere su madurez se denomina hospedador definitivo y el resto de ellos, hospedadores intermediarios.

Tabla 1. Características de las parasitosis transmitidas por pescados.
(Modificado del documento EFSA 2010[3])

Parásito	Hospedador intermediario	Hospedador definitivo	Distribución geográfica	Síntomas	Alergia	Diagnóstico	Tratamiento
TREMATODOS							
Opistorchis viverrini	Pescados de agua dulce y caracoles	Perros, gatos, ratas y cerdos	Europa, Turquía, islas del Caribe, Sudeste Asiático, Rusia, India, Japón	Hepatomegalia, fibrosis, obstrucción biliar, anorexia	No	Serología y heces	Praziquantel (25-75 mg/kg)
Opistorchis felineus	Pescados de agua dulce y caracoles	Perros, gatos, zorros, conejos martas, mofetas, ratas, leones y cerdos	España, Italia, Albania, Grecia, Francia, Macedonia, Suiza, Alemania, Polonia, Rusia y Turquía	Hepatomegalia, fibrosis, obstrucción biliar, anorexia	No	Coproscopia	Praziquantel (25-75 mg/kg)
Metorchis bilis	Ciprinidos y caracoles de agua dulce		España, Italia, Albania, Grecia, Francia, Macedonia, Suiza, Alemania, Polonia, Rusia y Turquía	Hepatomegalia, fibrosis, obstrucción biliar, anorexia	No	Coproscopia	Praziquantel (25-75 mg/kg)

Heterophyes heterophyes	Múju, tilapia y caracoles	Gatos, perros, zorros, lobos y pelícanos	Sudeste europeo, EE. UU., África, Israel, Filipinas	Diarrea mucoide, migración larvaria ectópica (corazón, cerebro...)	No	Coproscopia	Praziquantel (75 mg/kg 3 dosis por 2 días)
Metagonimus yokogawai	Salmón, ciprinidos y múju	Perros, gatos y ratas	Siberia, Balcanes, Israel y España	Diarrea y abdominalgia	No	Coproscopia	Praziquantel (75 mg/kg 3 dosis por 2 días)
Cryptocotile lingua	Lenguado, bacalao, incluso de piscifactoría		Noruega, Canadá, Alaska	Malestar abdominal	No	Coproscopia	Praziquantel (75 mg/kg 3 dosis por 2 días)
Echinocyasmus perfoliatus	Pescados y caracoles de agua dulce	Zorros, ratas, perros y jabalís	Japón , China, Taiwán, Hungría, Italia, Rumanía y Rusia	Ulceraciones en duodeno y estómago	No	Coproscopia	Praziquantel (75 mg/kg 3 dosis por 2 días)
Paragonimus westarmani	Cangrejo de río	Cerdos, perros y felinos	Sudeste Asiático, y Japón	Diarrea, dolor abdominal, fiebre, tos, hepatoesplenomegalia, eosinofilia	Urticaria	Coproscopia, microscopia de esputo, biopsia, serología	Praziquantel (75 mg/kg 3 dosis por 2 días)

(Continúa)

Tabla 1. Características de las parasitosis transmitidas por pescados.
(Modificado del documento EFSA 2010[3]) ***(continuación)***

Parásito	Hospedador intermediario	Hospedador definitivo	Distribución geográfica	Síntomas	Alergia	Diagnóstico	Tratamiento
CESTODOS							
Diphyllobotrium spp	Salmón, perca, rodaballo, lucio	Perros, osos	Países escandinavos, EE. UU., Sudamérica, Rusia, Cuba	Dolor abdominal, pérdida de peso	No	Coproscopia	Praziquantel (5-10 mg/kg durante 1 día)
NEMATODOS							
Anisakis simplex sensu lato	Pescados de mar y cefalópodos	Cetáceos mayoritariamente	Global	Dolor abdominal, vómitos, urticaria, anafilaxia	Sí	Endoscopia, radiología, intervención quirúrgica en síndromes oclusivos	Endoscopia Tratamiento quirúrgico Tratamiento de alergia
Pseudoterranova decipiens spp.	Pescados de mar y cefalópodos	Pinnípedos mayoritariamente	Global	Molestias faríngeas	Posible	Endoscopia, radiología, intervención quirúrgica en síndromes oclusivos	Endoscopia Tratamiento quirúrgico

1.1. Trematodos

Si consideramos la cantidad de población afectada, la parasitación ocasionada por trematodos se puede considerar la más mayoritaria. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la **trematodiasis** de transmisión alimentaria afecta a más de 56 millones de personas en el mundo[4]. Está causada por gusanos trematodos (también conocidos como "duela") y las especies que con mayor frecuencia afectan a los seres humanos son *Clonorchis, Opisthorchis, Fasciola* y *Paragonimus*. Sin embargo, esta parasitación tiene una localización muy concreta en el Sudeste Asiático y América Latina, de modo que apenas afecta a los occidentales. Solo en Tailandia afecta a más de 6 millones de personas. Estas parasitosis son zoonosis que se transmiten desde los mamíferos –a través de peces– al ser humano. Sin embargo, la transmisión directa no es posible porque requieren completar unos complejos ciclos biológicos que implican el paso por hospedadores intermediarios no mamíferos ni humanos **(figura 1)**. El primer hospedador intermediario es siempre un caracol de agua dulce; el segundo varía según la parasitosis: en la clonorquiasis y la opistorquiasis es un pez de agua dulce, pero en la paragonimiasis es un crustáceo. El hospedador definitivo siempre es un mamífero, como el humano, que adquiere la parasitosis al ingerir el segundo hospedador intermediario, que alberga las larvas del parásito.

Otro ejemplo de infestación por trematodos es la fascioliasis, que no requiere del segundo hospedador intermediario: el ser

humano la adquiere directamente al consumir los vegetales acuáticos a los que van adheridas las larvas.

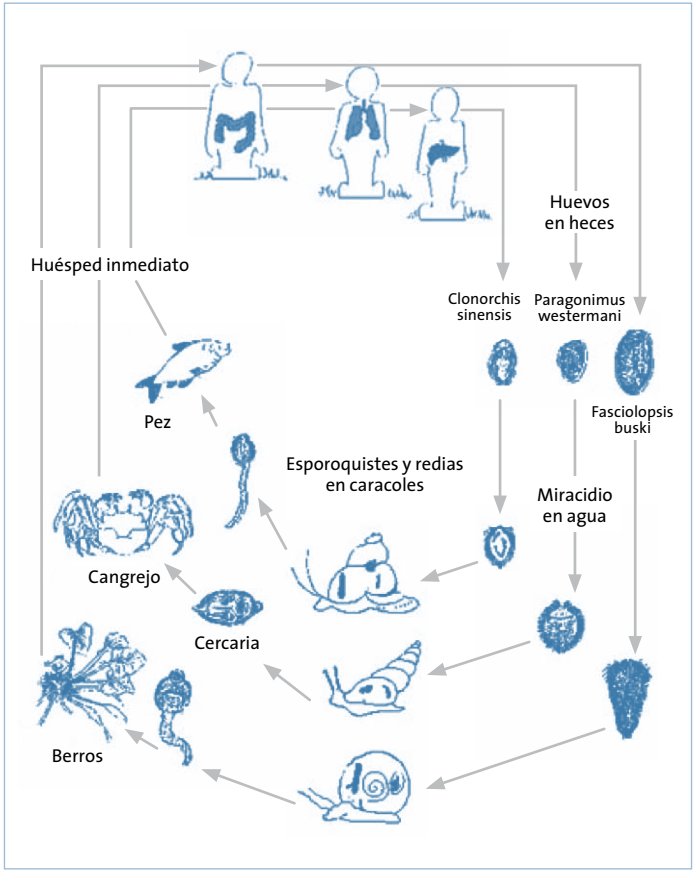


Figura 1. Esquema del diseño de un estudio transversal.

Las trematodiasis son zoonosis que se transmiten, generalmente a través de peces, al ser humano. Por tanto, hay que tener en cuenta el consumo de pescados de agua dulce, tanto salvajes como de piscifactoría sin cocinar convenientemente.

En cuanto a la **opistorquiasis**, es una infestación común en mamíferos salvajes y domésticos (perros y gatos) en el Sudeste Asiático *(Opistorchis viverrini)* y también en Europa del Este, Asia Central y Siberia *(Opistorchis felinea)*. El ciclo de transmisión incluye el hospedador definitivo, que es un mamífero, de modo que los parásitos adultos viven en los conductos biliares y emiten huevos que contaminan el entorno con la defecación. En agua dulce pasan a caracoles acuáticos desde donde parasitan peces en forma de metacercaria enquistándose en el tejido subcutáneo. Cuando los carnívoros ingieren el pescado crudo, eclosionan las metacercarias y los parásitos alcanzan el tracto digestivo y, así, completan el ciclo. La opistorquiasis crónica por *O. viverrini* está estrechamente asociada al colangiocarcinoma, hasta el punto de que la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) clasifica este parásito como agente del grupo 1 (carcinogénico para humanos).

1.2. Cestodos

La **difilobotriasis** se produce por el consumo de pescado parasitado por la llamada tenia de los peces *(Diphyllobothrium latum)*, que se encuentra fundamentalmente en agua dulce. En la figura 2 podemos ver su ciclo biológico. Existen otras especies, como *Diphyllobothrium yonagoense, Diphyllobothrium pacificum, Diphyllobothrium cameroni, Diphyllobothrium scoticum y Diphyllobothrium hians*, que han causado infestaciones humanas en Japón, la República de Corea y otros lugares. Las personas y los mamíferos consumidores de pescado son los hospedadores definitivos, y los copépodos y los peces de agua dulce, los huéspedes intermediarios. El humano se infesta tras el consumo de pescado crudo, mal cocinado o mínimamente elaborado. Según datos de la OMS, esta enfermedad aunque se ha notificado en otros lugares del mundo, es más prevalente en Estados Unidos, Europa Oriental y la Federación de Rusia. La difilobotriasis no es una enfermedad grave y no suele ser de notificación obligatoria a las autoridades sanitarias. Sin embargo, en Estados Unidos se considera que esta enfermedad es mucho más frecuente que la anisakiasis. La mayor parte de los estudios sobre la difilobotriasis se refieren a la situación en Estados Unidos, donde el salmón es el pescado que con más frecuencia transmite *D. latum*, aunque el parásito no parece ser selectivo para la infección de este tipo de peces.

Habida cuenta de la distribución generalizada de *Diphyllobothrium* spp. en el mundo y sus mecanismos de transmi-

sión, no se puede descartar su presencia en los sistemas de acuicultura. Según publica la OMS, de hecho se ha detectado *D. ditremum* en salmones criados en jaulas de lagos de agua dulce de Europa. Las infecciones se pueden tratar con varios medicamentos antihelmínticos, por ejemplo, niclosamida, praziquantel y sulfato de paromomicina.

La difilobotriasis, en Estados Unidos se considera mucho más frecuente que la anisakiasis. No se puede descartar su presencia en peces de piscifactoría, como el salmón, la perca y el rodaballo.

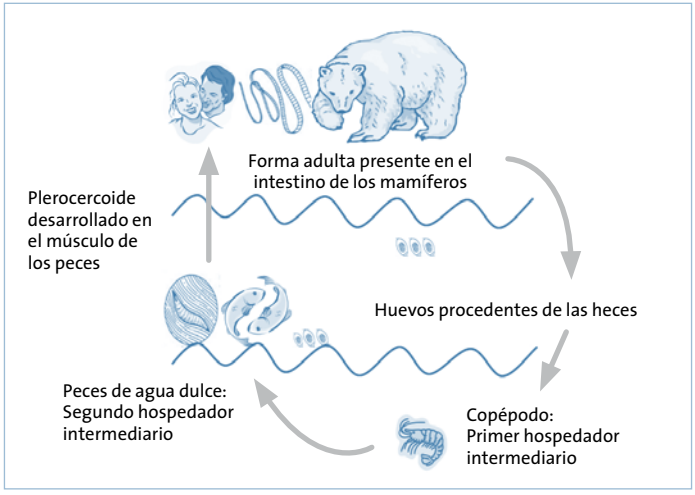


Figura 2. Ciclo biológico del *Diphyllobothrium latum*.

1.3. Microsporidia

Hasta la actualidad no se ha demostrado que ningún microsporidio o protozoo parásito de peces presente riesgo para los consumidores. Sin embargo, algunos microsporidios del género *Nosema, Enterocytozoon* y *Pleistophora* han sido aislados en pacientes con sida y en pacientes con inmunodeficiencias graves y se consideran infecciones oportunistas de origen incierto[3].

1.4. Nematodos

En Europa Occidental la **anisakiasis** es la zoonosis más frecuentemente inducida por pescado de origen marino. Esta parasitosis se describió por primera vez en 1876 en Groenlandia por Leuckart y, posteriormente, en 1955 se detectó en Holanda la presencia de un gusano tipo nematodo en un paciente con un cuadro oclusivo intestinal relacionado con la ingestión de pescado ahumado. A raíz de estos hallazgos, entre 1955 y 1960 se fueron describiendo una serie de 154 casos relacionados con el consumo de pescado ahumado a bajas temperaturas[5,6]. El parásito fue identificado con posterioridad a los hallazgos clínicos y se denominó *Anisakis*. A raíz de estos hechos, se puso en práctica una legislación sobre el congelado previo de los pescados crudos ahumados destinados al consumo humano.

A partir de entonces el problema de la parasitación pasó de Europa a Japón, donde se describieron la mayoría de los

casos de anisakiasis, dado que sus costumbres alimenticias incluyen platos de pescado crudo. De los 20.000 casos descritos en el mundo, aproximadamente el 90% corresponde a autores japoneses, ya que en Japón se diagnostican unos 2.000 casos por año. Sin embargo, a partir de la década de 1990 han incrementado los casos descritos en otros países europeos y, concretamente, en España. En 1991 se habían comunicado casos contados de anisakiasis y, coincidiendo con el pico de publicaciones de alergia, a partir de 1995 también aumentaron los casos descritos de parasitación[3,7-9]. Estos hallazgos no son de extrañar si tenemos en cuenta que España es uno de los países que más pescado consume dentro de la Comunidad Europea y que se encuentra en el segundo grupo de países consumidores a nivel mundial (entre 30 y 60 kg/persona/año).

En el año 2004 se estableció una normativa europea de consumo de pescado con objeto de prevenir esta parasitación[10]. En esta normativa se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal.

En el año 2006 se aplicó la normativa europea a la española mediante Real Decreto[11].

En el año 2010 la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) elaboró un documento sobre la seguridad del pescado procedente de piscifactorías en lo concerniente a las reacciones alérgicas al *Anisakis*[3].

En nuestro medio la anisakiasis es la zoonosis más frecuentemente inducida por pescado de origen marino. Esta parasitosis ha generado diversas normativas que recomiendan el cocinado y congelado del pescado destinado al consumo humano.

1.5. Globalización y zoonosis

En los últimos dos siglos se han producido grandes cambios, tanto climáticos como referentes a desplazamientos del hombre a ecosistemas silvestres, lo que ha ocasionado migraciones de animales. Si a esto le añadimos el nuevo modelo económico y la globalización, que favorecen las rápidas importaciones, el contacto con animales silvestres y domésticos y los cambios en los hábitos alimentarios, podremos entender por qué se ha provocado un incremento o aparición de nuevas zoonosis transmitidas por vectores y alimentos.

Asimismo, los movimientos migratorios por negocios, vacaciones, aspectos militares y el flujo de refugiados y trabajadores ilegales y legales de un país a otro han favorecido la importación de agentes infecciosos, reservorios y vectores antes no identificados, o identificados de manera excepcional en diversas áreas geográficas.

La OMS, por su parte, considera que alrededor del 60% de los agentes causales de enfermedades infecciosas son de origen zoonótico, y de hecho se han descrito más de 200 zoonosis[4].

Por otra parte, las enfermedades tropicales olvidadas (NTD, por sus siglas en inglés, *Neglected Tropical Diseases*) han generado programas para su manejo y control por parte de la OMS, y se ha considerado erradicar varias zoonosis, entre las que se encuentran teniasis/cisticercosis, equinococosis y trematodiasis transmitidas por alimentos. Las intervenciones que realizar no solo incluyen tratamientos con fármacos, sino también control de vectores, programas de agua segura, sanidad e higiene y servicios efectivos de salud pública veterinaria, con atención a las enfermedades zoonóticas olvidadas.

Hoy en día los profesionales de la salud debemos ser conscientes y conocedores de la importancia de las zoonosis y, concretamente, de las enfermedades parasitarias, que durante muchos años se habían considerado de baja relevancia en el mundo occidental.

2

CARACTERÍSTICAS DEL 'ANISAKIS'

2. CARACTERÍSTICAS DEL 'ANISAKIS'

2.1. Características taxonómicas y morfológicas

El *Anisakis* es un parásito que pertenece a los denominados helmintos (gusanos cilíndricos), cuya forma adulta habita en aves y grandes mamíferos marinos. Los anisákidos han sido ampliamente estudiados con respecto a su taxonomía y ciclos de vida. Sin embargo, la clasificación taxonómica del género *Anisakis* es compleja y ha suscitado controversia. La clasificación más aceptada era la sugerida por Smith y Wootten, que De Ley y Blaxterhan sugirieron cambiar en 2004 y es como sigue:

Clase Chromodorea

Orden Rhabditida

Suborden Rhabditida

Infraorden Ascaridomorpha

Superfamilia Ascaridoidea

Familia Anisakinae

Género *Anisakis*

La familia Anisakidae comprende al menos 24 géneros, de los cuales los más conocidos son *Phocascaris, Phocanamea, Contracaecum* y *Anisakis*. Se estima que Phocanamea *(Pseudoterranova)* y *Contracaecum (Thynascaris)* son de menor importancia, aunque desde el punto de vista epidemiológico es necesario evaluar su incidencia real en la población, especialmente en lo relativo a sensibilización a alérgenos[12].

Dentro del género *Anisakis* (Dujardin, 1845) se incluye la especie *Anisakis simplex* (RUDOLPHI, 1809). Esta especie es la más habitual en aguas templado-frías y polares y, por tanto, la más frecuente en los peces de consumo habitual en nuestro país. Otras especies de este género se fueron añadiendo con los años, y actualmente se considera *Anisakis simplex sensu lato* un complejo parasitario que está formado por tres especies: *Anisakis simplex sensu estricto* (se), *Anisakis pegreffi* y *Anisakis simplex C*. Aunque existen al menos otras diez especies del género *Anisakis*, este complejo es la causa principal de parasitismo y alergia de reconocida importancia sanitaria en España.

Durante la década de 1960 se utilizó el término anisakiasis para referirse a la enfermedad humana producida por nema-

todos larvarios pertenecientes a la familia Anisakidae. Posteriormente, dada la complejidad de la identificación de estos parásitos, un grupo de expertos[13] (SNOAPAD) recomendó la utilización de términos diferenciados: *1)* **Anisakidosis** para la infestación por parásitos de la familia Anisakidae en general, *2)* **Anisakiosis** al referirnos concretamente al género *Anisakis*, *3)* **Pseudoterranovosis** para el género *Pseudoterranova* y *4)* **Contracecosis** para el género *Contracaecum*. A partir de ahora utilizaremos esta terminología.

Los **anisákidos**, como género, tienen una distribución global en los cinco continentes, pero las diferentes especies presentan sus propios nichos ecológicos, de modo que se distribuyen de forma heterogénea dependiendo de la distribución geográfica de sus hospedadores. Las especies de anisákidos responsables de la parasitación humana pertenecen fundamentalmente al género *A. simplex* y, en menor medida, a los denominados *Pseudoterranova decipiens* también llamado "gusano del bacalao" y *Contracaecum*. En cuanto a *Hysterothylacium aduncum*, que inicialmente fue considerada posible fuente de parasitación en humanos, se descartó con posterioridad al comprobar que muere a temperaturas de 37 °C y no es capaz de penetrar la mucosa gástrica. En cuanto a *P. decipiens sensu lato*, se han descrito tres especies que, al parecer, utilizan diferentes hospedadores definitivos: *P. decipiens A, B y C*.

Los humanos no somos un hospedador adecuado para los anisákidos, de modo que nos comportamos como un hospe-

dador accidental, e interrumpimos el ciclo vital al no alcanzarse la etapa adulta.

Los anisákidos tienen una distribución global en los cinco continentes y las especies de anisákidos responsables de la parasitación humana pertenecen fundamentalmente al género *A. simplex*.

Los humanos somos hospedadores accidentales e interrumpimos el ciclo vital de estos parásitos que no alcanzan la fase adulta.

A simple vista las larvas del tercer estadio de *Anisakis* son filiformes, de color blanco-rosado y presentan una pequeña mancha blanquecina alargada localizada en el tercio anterior del cuerpo que corresponde al ventrículo como se puede ver en la **figura 3**. Su longitud varía entre 2 y 3 cm y se mueven activamente. El estadio larvario (L3) es visible a simple vista cuando se abre la cavidad abdominal de pescados marinos y cefalópodos, en forma libre o formando ovillos en la cavidad peritoneal. También en ocasiones se ven las L3 enrolladas en espiral plana, en músculo y vísceras de los pescados o cefalópodos. Dependiendo del pez que las aloje estas espirales adquieren una coloración oscura (en la merluza, por ejemplo), pero al liberar la larva se puede observar como presenta su característico tono rosado/nacarado y se mueven activamen-

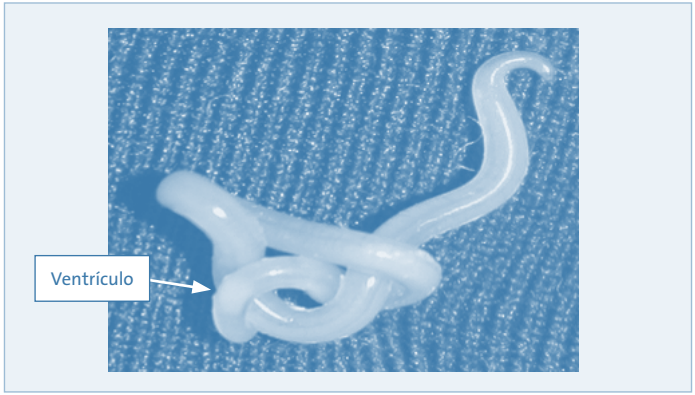


Figura 3. Fotografía de la larva L3 de *Anisakis*.

te. En los calamares, habitualmente se localizan en la pared externa del estómago y, más raramente, en la musculatura del manto. En la figura 3 podemos ver una fotografía de la larva L3.

Las larvas de *A. simplex* (L3) son visibles a simple vista y tienen el aspecto de un gusano cilíndrico blanco-rosado de 20 a 30 mm de longitud.

Los criterios de identificación son básicamente morfológicos, y se requiere la microscopía óptica para diferenciar dentro de la subfamilia Anisakinae los diferentes géneros **(figura 4)**. Con el microscopio óptico **(figura 5)** se observan bien las estructu-

ras de la boca con su diente de penetración y el ventrículo que se une al intestino formando un plano oblicuo en *P. decipiens*; sin embargo, para *A. simplex* es horizontal.

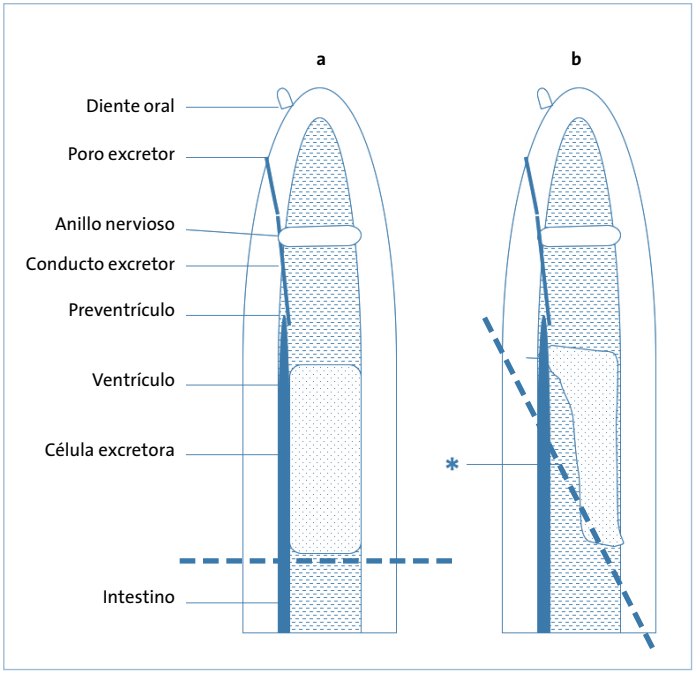


Figura 4. Esquema de microscopía óptica. Esquema representativo del extremo anterior de la larva L3 de *Anisakis* (a) y *Pseudoterranova* (b). Puede apreciarse como la línea que se traza entre el ventrículo de *Anisakis* que divide el esófago y el intestino sigue una línea recta mientras que el de *Pseudoterranova* sigue una línea oblicua, formando un apéndice (*).

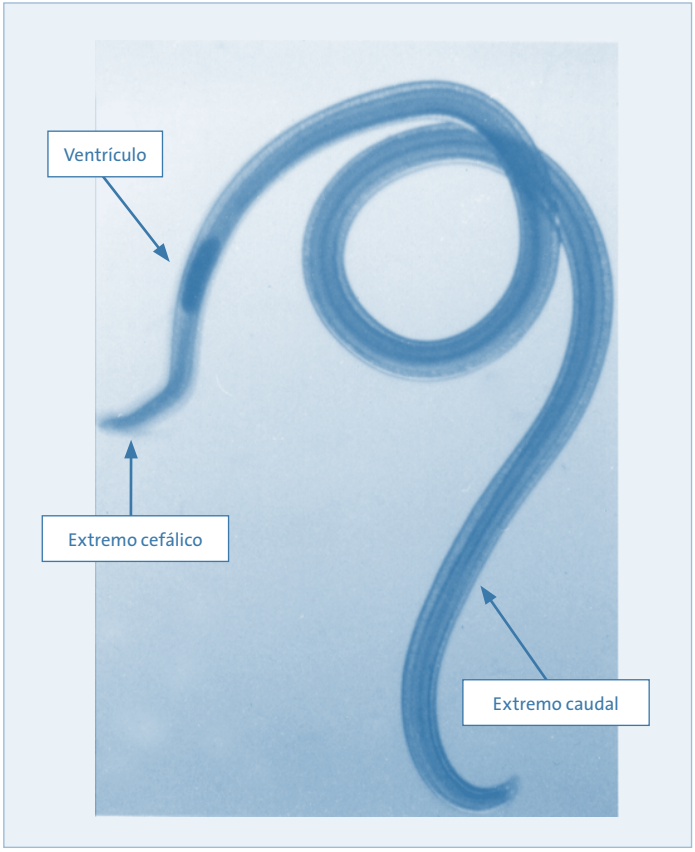


Figura 5. Imagen de microscopía óptica de una larva L3 de *Anisakis*. Se trata de una imagen del tercer estadio larvario de *A. simplex* vivo obtenido de una merluza parasitada y visto a microscopía óptica. El cuerpo está cubierto por una dura cutícula que aloja por debajo de una musculatura longitudinal.

2.2. Ciclo biológico

El ciclo biológico de dicho parásito incluye una forma adulta y cuatro estadios larvarios **(figura 6)**. El parásito adulto suele encontrarse en el estómago de gran variedad de mamíferos marinos o aves piscívoras que constituyen el **hospedador definitivo**. *A. simplex* se encuentra fundamentalmente en el tracto gastrointestinal de cetáceos (ballenas, delfines, marsopas, orcas, narvales), mientras que *Pseudoterranova spp.* y *Phocascaris* viven en pinnípedos (focas, leones marinos y morsas). Algunas especies de *Contracaecum* alcanzan la madurez en pinnípedos, mientras que otros lo hacen en aves piscívoras como cormoranes y pelícanos. En los estómagos de estos hospedadores definitivos, las larvas alcanzan el estado adulto y la madurez sexual. Al copular las hembras producen huevos fecundados que se expulsan a través del aparato digestivo por las heces. Los huevos del parásito acceden al agua de mar envueltos en las heces y en este medio tiene lugar su desarrollo embrionario que necesita de dos mudas (**L1** a **L2** y **L2** a **L3**), las cuales se producen dentro del huevo y, ya en forma de L3, se liberan al medio después de la eclosión.

Las **L3** no pueden sobrevivir en el agua más de 1 semana a 24 °C y hasta 14 semanas a una temperatura de entre 4 y 10 °C. Para que el ciclo continúe han de ser ingeridas por un **hospedador intermediario**, bien directamente (en el caso de **eufásidos**, un tipo de pequeños crustáceos) o indirectamente a través de un **copépodo** que actúa como un hospedador de

transporte (**paraténico**) que sirven como alimento a los crustáceos. Es en los crustáceos donde las L3 pierden su vaina cuticular y completan su desarrollo en el hemocele. Estos crustáceos son ingeridos por peces y cefalópodos, constituyéndose el segundo hospedador intermediario, en los cuales madura el tercer estadio larvario (**L3**). Como hemos mencionado previamente, la mayoría de los pinnípedos y cetáceos (delfines, marsopas, orcas, narvales, cachalotes, calderones y ballenas piloto, entre otros) adquieren el parásito por depredación de teleósteos y cefalópodos que alojan en sus músculos y vísceras a las L3. Sin embargo, la ingestión de eufásidos también puede proporcionar directamente la **L3**, como se confirma con determinadas especies de ballenas *(Balaenoptera musculus)* que se alimentan exclusivamente de estos crustáceos. El ciclo se cierra cuando los hospedadores definitivos ingieren los intermediarios portadores de L3.

Los mamíferos marinos y aves piscívoras adquieren la parasitación al ingerir el tercer estadio larvario (L3) cuando se alimentan de peces y cefalópodos contaminados, aunque también pueden hacerlo las ballenas por depredación directa de L3 contenidas en el plancton.

Una vez ingeridas, estas larvas penetran en la mucosa del estómago, donde sufren las dos últimas mudas y alcanzan

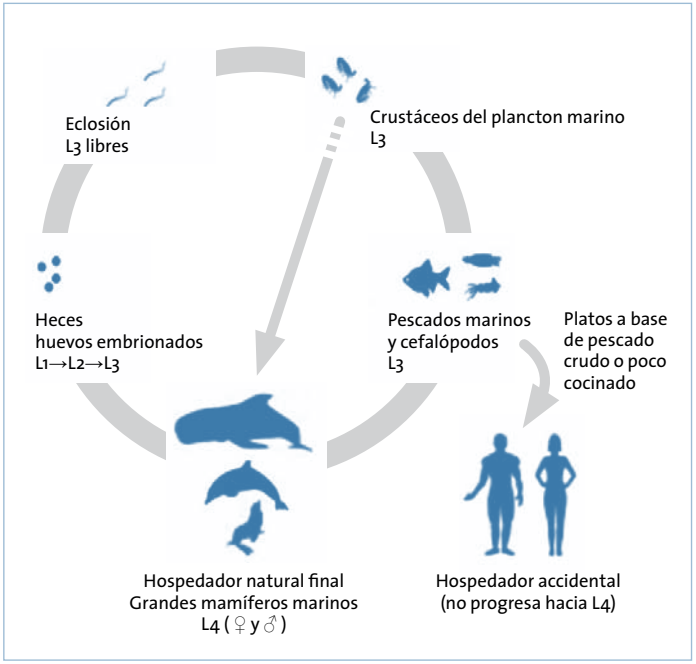


Figura 6. Ciclo biológico de *A. simplex*.

la madurez sexual. Normalmente, se observan en los hospedadores definitivos grupos de 50 a 100 nematodos, pertenecientes a estadios **L3**, **L4** y **adultos**, en el centro de úlceras digestivas de 1 a 6 cm de diámetro. A su vez, también el ciclo puede sufrir diversos bucles al presentar varios pasos de un pez o cefalópodo a otro hasta ser ingeridos por mamíferos marinos. Una vez que el parásito alcanza el estadio adulto

(alojado en el aparato digestivo de estos grandes mamíferos) se produce la reproducción sexual y la liberación de los huevos al exterior a través de las heces del huésped definitivo; así se cierra el ciclo biológico.

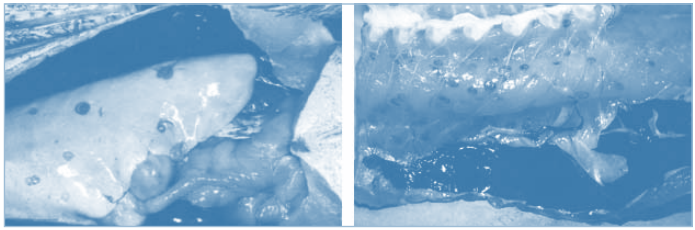
El humano se puede convertir en hospedador accidental al ingerir pescados y cefalópodos contaminados con L3 y cocinados de forma insuficiente. Dentro del ciclo, el humano se comporta como un hospedador poco eficaz, ya que lo interrumpe al no ser capaz de transmitir la larva ni de que madure en el interior de su aparato digestivo. Aunque el hombre no es el hospedador idóneo, en algunos casos muy excepcionales se han detectado estadios de transición entre L3 y L4, así como L4 inmaduros, desarrollados en el tracto digestivo humano, especialmente con *Pseudoterranova*, pero hasta la actualidad no hay evidencias de que se alcance la madurez sexual.

La larva no se desarrolla hasta su estado adulto en los humanos. Cualquier pescado o cefalópodo marino puede alojar larvas de anisákidos.

Los parásitos de la familia Anisakidae han existido en el medio marino desde mucho antes de la aparición del *Homo sapiens*. Hace ya más de cuatro millones de años que ya estaban presentes algunas especies de la familia Anisakidae que se dan en la actualidad[14].

Entre las numerosas especies de peces y cefalópodos que sufren la parasitación por anisákidos, muchas son de importancia comercial por el consumo humano que conllevan. Algunas de las más importantes son el arenque, la sardina, la anchoa, el salmón, el abadejo, la merluza, la bacaladilla, la caballa, el bonito/atún, el rape, el rodaballo, el jurel y el calamar, entre otros[15]. Habitualmente, las larvas L3 de anisákidos se alojan en su mayoría en el paquete visceral formando ovillos o pelotones en grupos en el mesenterio y la cavidad peritoneal de los peces, también pueden enquistarse en el músculo más próximo a la cavidad abdominal y cavidad peritoneal (**figuras 7 y 8)**. Las larvas también pueden enquistarse formando **espirales planas de unos 4 o 5 mm de diámetro** en las vísceras o en el músculo. Esto último suele ocurrir en las zonas adyacentes a la cavidad abdominal o región hipoaxial (ventresca o ijada), donde se ven enrolladas en espiral. Cuando están encapsuladas en la musculatura de los peces, suelen adoptar una coloración más oscura variando del blanco-nacarado a un color pardo (v. figuras 7 y 8).

En general se considera que cualquier pescado marino es susceptible de estar parasitado por larvas de anisákidos. Sin embargo, tanto la cantidad de larvas como su distribución dentro del pez dependen claramente de sus hábitats marinos y de sus hábitos alimentarios. Así, en los peces que se alimentan de eufásidos (bacaladilla, arenque, caballa), las larvas se alojan mayoritariamente en la cavidad abdominal y vísceras, lo que conlleva menor riesgo para el humano. En contrapo-



Figuras 7 y 8. Pieza de merluza *(Merluccius merluccius)* abierta para ver el paquete visceral y la parte muscular comestible. A la izquierda, el paquete visceral parasitado por L3 de *Anisakis* en forma de espiral, y a la derecha, parásitos presentes en la parte correspondiente al músculo que envuelve la cavidad abdominal (teóricamente parte comestible de una pieza de merluza).

sición, en aquellos peces denominados ictiófagos o que se alimentan de otros peces (abadejo, bacalao, merluza, rape), los parásitos son abundantes en la musculatura que rodea la cavidad abdominal del pez. Estos últimos, por lo tanto, suponen mayor riesgo para el consumo, dado que habitualmente ingerimos la musculatura y no el paquete visceral.

Por otra parte, la prevalencia o porcentaje de peces infestados, así como la abundancia (número de parásitos por pez analizado), suele aumentar con la talla y la edad del pez. Pero no siempre es así, ya que en algunos casos se ha demostrado que el tamaño influye en sentido negativo. Este hecho debe estar relacionado con la inmunidad del propio pez, de modo que cuando el parásito es capaz de evadir el sistema inmu-

nitario a mayor tamaño se produce menor carga parasitaria y viceversa[16]. Se ha demostrado, por ejemplo, que algunas muestras de arenques con abundantes larvas presentes en la cavidad visceral pueden estar libres de larvas en el músculo[17]. La abundancia de mamíferos marinos en los caladeros aumenta la posibilidad de parasitación y en estudios sistemáticos en caladeros concretos se ha objetivado un incremento de la parasitación en los últimos años[18].

Aunque hace décadas solamente se consideraban especies parasitadas por anisákidos el bacalao parasitado por *Pseudoterranova* y el arenque por *Anisakis*, hoy en día sabemos que la mayoría de las especies de pescado marino tienen riesgo de parasitación. El pescado procedente de la pesca extractiva o salvaje no se puede controlar respecto al riesgo de contener parásitos: es una contaminación biológica que hay que asumir, lo mismo que ocurre con los productos procedentes de la caza. En cuanto a los pescados procedentes de piscifactoría, hasta la actualidad el único garantizado libre de *Anisakis* es el salmón.

Algunos pescados de nuestros caladeros están muy parasitados, fundamentalmente los ejemplares de merluza *(Merluccius merluccius)*, que es una de las especies más consumidas en fresco por la población vasca y, por lo tanto, representa la especie de mayor riesgo en esta región. Podemos afirmar que el 100% de las merluzas *(Merluccius merluccius)* procedentes del Cantábrico y el golfo de Vizcaya de más de 65 cm están parasitadas frente a menos del 10% de las merluzas africanas

del cabo *(Merluccius capensis)*, que, además, presentan una carga parasitaria mucho menor[19].

Aspholm[20] investigó la presencia de *A. simplex* en filetes de bacalao procedentes de Noruega y del mar de Barents. El porcentaje de bacalao parasitado era del 96%, con una media de 4,3 a 6,1 parásitos. Perdiguero-Alonso et al. también registraron una alta prevalencia de *Anisakis* en bacalao procedente del Mar Céltico (92%) e Islas de Islandia (99%)[21]. La parasitación por *P. decipiens* excede el 50% en estas áreas.

En el lado opuesto se encontrarían otras especies que por presentar menor parasitación representan un riesgo muy bajo, como son el gallo y el verdel. Los túnidos, aunque presentan índices de parasitación importante a nivel visceral, dadas las características de su musculatura (son grandes nadadores con musculatura potente) suelen alojar con menos frecuencia parásitos a nivel de la misma.

Cualquier pescado marino es susceptible de estar parasitado por larvas de anisákidos. Estas larvas se alojan habitualmente en el paquete visceral (formando ovillos o pelotones) de los peces o enquistadas en el músculo más próximo a la cavidad abdominal y cavidad peritoneal (formando espirales planas).

3

PREVALENCIA Y EPIDEMIOLOGÍA

3. PREVALENCIA Y EPIDEMIOLOGÍA

3.1. Epidemiología de parasitación por anisákidos

Como ya se ha comentado, aunque el primer caso se describió en Groenlandia en 1876 y la confirmación de la presencia de un nematodo en una oclusión intestinal se dio en 1955 en Holanda, no se identificó el parásito hasta la década de 1960, época que coincidió con una serie de casos relacionados con el consumo de pescado ahumado a baja temperatura[5,6].

Con posterioridad se ha evidenciado que Japón es el país donde se contabilizan más de 20.000 casos, de modo que más del 95% del total de los casos denunciados al año en el mundo corresponden a este país. Este hecho se ha relacionado con sus costumbres alimenticias muy arraigadas que incluyen platos de pescado crudo[22,23]. Habitualmente, se describen unos 2.000 casos/año en Japón y los estudios epidemiológicos han demos-

trado que esta parasitación es más frecuente en poblaciones cercanas a la costa y entre sujetos con edades comprendidas entre los 20 y los 50 años[24,25].

Ya en 1971 llamó la atención a Cheng que los casos de anisakidosis sean tan frecuentes en Japón y, sin embargo, no ocurría lo mismo en poblaciones que consumen también mucho pescado y de las mismas variedades, como China y Taiwán[25]. Cheng et al. sugerían que en China se consume el pescado con el estómago lleno mientras que en Japón constituye el primer plato. Otros autores, sin embargo, sugieren que el factor protector se debe al consumo concomitante de las famosas "hierbas chinas", como las hojas de perilla *(Perilla frutescens)* y los rizomas de jengibre *(Zingiber officinale)*, que son letales para las larvas L3[26].

En su conjunto, la cifra de casos descrita fuera de Japón se puede considerar mucho más discreta (alrededor de 50 casos en EE. UU. y unos 600 en Europa). En Estados Unidos la mayoría de los casos se relacionan con el salmón del Pacífico y con el nuevo hábito adquirido de consumir sushi en los últimos 25 o 30 años[27-29]. Un estudio demuestra que el 10% del salmón consumido en los bares de sushi de Seattle contienen larvas de *Anisakis*[30].

Sin embargo, en Europa, aunque el aumento de casos se relaciona también con el auge del consumo de comidas japonesas (sushi y sashimi), así como con hábitos culinarios insuficientes

(microondas, plancha o asado), las especies más implicadas varían dependiendo de los países[31,32]. En España, los casos de anisakidosis inicialmente se consideraron anecdóticos, pero han ido incrementándose considerablemente[33,34], y la mayoría de los casos se han relacionado con el consumo de anchoas en vinagre (boquerones) y sardinas[32,33]. La Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria (ELIKA) realizó un estudio sobre los hábitos de consumo de pescado en el País Vasco y concluyó que se consume fresco y en ocasiones poco cocinado (fritura, parrilla, etc.), de tal modo que puede alojar larvas vivas en su interior. Estos datos explicarían la elevada prevalencia de sensibilización hallada en la población sana y, posiblemente, casos de parasitación que han pasado inadvertidos[35].

A partir de la década de 1990, esta patología se fue dando a conocer y se han descrito nuevos casos en todo el mundo incluyendo Asia (Corea), Europa (Holanda, Francia, Reino Unido, España, Alemania e Italia, entre otros), África (Egipto) y América (EE. UU., Alaska, Hawái, Canadá y América Latina), así como Nueva Zelanda[9,19,36-48].

Sakanari y McKerrow[47] propusieron una serie de razones por las cuales se habían incrementado los casos a partir de la década de 1980, que son aplicables a todo el planeta y que se resumen en: *1)* los anisákidos están presentes en todos los océanos y grandes mares; *2)* el incremento de las poblaciones de hospedadores definitivos (mamíferos marinos), como consecuencia de medidas de conservación animal; *3)* movimientos

Tabla 2. Ejemplos de prevalencia de parasitación por *A. simplex* en varias especies de pescados procedentes de diferentes áreas geográficas. (Modificado del documento EFSA 2010[3])

Área	Especie	Prevalencia	Referencia
Mar de Barents	Bacalao *(Gadus morhua)*	96%	Aspholm, 1995
Costa portuguesa	Jurel *(Trachurus trachurus)*	76%	Silva y Eiras, 2003
	Caballa (Scomber scombrus)	96%	
	Merluza (Merluccius spp.)	100%	
	Bacaladilla (Micromesistius poutassou)	94%	
Madeira (Portugal)	Caballa *(Scomber japonicus)*	70%	Costa et al., 2003
Costa mediterránea de España	Bacaladilla *(Micromesistius poutassou)* (17-24 cm)	12%	Valero et al., 2000
	Bacaladilla *(Micromesistius poutassou)* (>25 cm)	17%	Valero et al., 2006
	Merluza *(Merluccius spp.)*	41-100%	Ceballos-Mendiola et al., 2010

Mar Mediterráneo (Italia)	Jurel de altura *(Trachurus picturatus)*	80-100%	Manfredi et al., 2000
Galicia	Merluza *(Merluccius spp.)*	100%	Ceballos-Mendiola et al., 2010
	Bacaladilla *(Micromesistius poutassou)*	>70%	Abollo et al., 2001
	Maruca *(Molva molva)*		
	Rape *(Lophius piscatorius)*		
	Caballa *(Scomber scombrus)*		
	Chopa *(Spondyliosoma cantharus)*		
Francia	Bacalao *(Gadus morhua)*	1,97%	Angot, 1993
	Bacalada *(Merlangius merlangus)*	3,55%	
Costa norte de Marruecos	Estornino *(Scomber japonicus)*	65,4%	Abattouy et al., 2011
	Jurel *(Trachurus trachurus)*	54,9%	Abattouy, 2012
	Calamar gigante *(Dosidicus gigas)*	17,7%	Céspedes et al., 2011

migratorios humanos, globalización e incremento de consumo de platos exóticos; *4)* uso de herramientas de comida rápida (microondas, etc.) e incremento del gusto por la comida poco cocinada, y *5)* el incremento del consumo de pescado en aras de mejorar la dieta cardiosaludable por los beneficios de la dieta mediterránea.

La Pseudoterranovosis (causada por el llamado también gusano del bacalao o *codworm* es poco frecuente en Europa y, sin embargo, es más frecuente en EE. UU., Canadá y también en Corea y Chile[47,49,50-52]. Los pescados implicados en su transmisión son el bacalao del Pacífico *(Gadus macrocephala)*, el halibut del Pacífico *(Hippoglossus stenolepsis)* en Japón y el bacalao de roca o *red snapper (Sebastes spp.)* en EE. UU.[49].

La parasitación por anisákidos se ha descrito en los cinco continentes (tabla 2), aunque los platos de riesgo y los pescados implicados varían en función de los hábitos alimenticios de los mismos. En España se ha relacionado con boquerones en vinagre, en Japón con halibut y en EE. UU con salmón y bacalao.

3.2. Prevalencia de parasitación de pescados por anisákidos

Las enfermedades humanas ocasionadas por el consumo de pescado y cefalópodos parasitados por helmintos representan hoy en día uno de los mayores problemas sanitarios, ya que algunos de estos parásitos son altamente patógenos. La infestación de los consumidores se ha asociado con aquellos países en los cuales se consume de forma tradicional pescado crudo o preparaciones culinarias en las que las larvas permanecen vivas (sushi, sashimi, cebiche, boquerones en vinagre, ahumados en frío, etc.). En la actualidad, el consumo se ha extendido a otros países debido al incremento del turismo con acceso a formas de consumo diferentes y a un incremento del comercio internacional, por lo que se necesita conocer el estado actual de las infestaciones de los pescados de distinto origen.

Aunque en las primeras descripciones del parásito prácticamente solo se consideraban como especies de pescado parasitadas por anisákidos el bacalao *(Gadus morhua)*, parasitado por *P. decipiens* (gusano del bacalao), y el arenque *(Clupea arengus)* parasitado por *Anisakis* spp. (gusano del arenque), hoy en día se sabe que la mayoría de las especies de pescado marinas de consumo que llegan a los mercados pueden estar parasitadas por anisákidos, fundamentalmente por *Anisakis* spp. Existen informes publicados en los que se ha comprobado que más de 160 especies de peces y cefalópodos marinos están infestadas con larvas de anisákidos, sobre todo por *A. simplex*. Las

larvas L3 de anisákidos sueñen ser detectadas en la mayoría de las especies marinas de pescado que se consumen en España y su prevalencia entre los pescados que llegan a las lonjas es de entre el 25% y el 80%, con tasas elevadas de infestación en algunas especies procedentes de aguas del Atlántico Norte europeo, aguas que tradicionalmente se han considerado de las más productivas con respecto a la pesca extractiva en Europa **(tabla 3)**.

Existe evidencia de que ha aumentado el nivel de parasitación en los últimos 50 años, sobre todo en las costas escocesas, donde se han realizado mapeos sistemáticos de la musculatura de diversos peces[4]. Estos autores remarcan que en la década de 1960 la prevalencia de infección del merlán *(Meriangius merlangus)* rondaba el 1,5%, mientras que en la de 1970 subió al 33%. Las muestras de bacalao en 2005-2006 de Petrie sugieren nuevos incrementos en las parasitaciones por *Anisakis* y *Pseudoterranova*, tanto en aguas escocesas como fuera de las mismas. Las focas grises son el hospedador definitivo más importante de *Pseudoterranova* en aguas escocesas y su población ha aumentado considerablemente desde la década de 1960, lo cual podría explicar el incremento en la parasitación de los peces[3,4]. Para *Anisakis*, sin embargo, las razones no son tan evidentes.

Existe evidencia de que en los últimos 50 años se ha incrementado la parasitación por *Anisakis* y *Pseudoterranova* en las áreas de pesca europeas. El número de larvas y su distribución en la musculatura del pescado difiere con la especie de pescado y con los caladeros de donde proceden.

En estudios efectuados en especies capturadas en el Atlántico Norte, entre el 90% y el 98% de las larvas se localizaban en la cavidad abdominal y vísceras, y el resto en la musculatura, sobre todo en la ventral[53]. Sin embargo, en algunas especies de salmón del Pacífico se detecta más abundancia en *A. simplex* en la musculatura (87%), con localización preferente en la musculatura adyacente al abdomen[28]. En merluzas *(Merluccius merluccius)* de tamaño grande capturadas en el Atlántico Norte se ha detectado que la prevalencia de larvas L3 de *A. simplex* se daba en el 100% de los ejemplares, y se habían encontrado algunos con más de 1.500 larvas en la cavidad intestinal y más de 200 larvas encapsuladas en la musculatura ventral inmediatamente después de ser capturada[53].

En peces capturados en el Adriático, se han detectado los parásitos en las siguientes vísceras de forma preferente: el hígado en la merluza, el intestino en la caballa y la anchoa y las gónadas en el jurel[54]. En la bacaladilla, la víscera con mayor tasa de infestación es el hígado, y el tamaño de larvas disminuye con el

Tabla 3. Principales pescados implicados en parasitación por anisákidos que se consumen en España

Gadiformes	
Merlucciidae	Merluza, pescadilla *(Merluccius spp.)*
Gadidae	Bacalao *(Gadus morhua)* Merlán, liba, bacalada *(Merlangius merlangius)* Bacaladilla *(Micromesistius poutassou)* Abadejo *(Pollachius pollachius)* Carbonero *(Pollachius virens)* Faneca *(Trisopterus luscus)* Capellán *(Trisopterus minutus capelanus)* Brótola *(Phycis spp.)*, Maruca *(Molvamolva)* Bertorella *(Molva blennoides)* Palo *(Molva dipterygia)*
Perciformes	
Moronidae	Lubina, lobina o róbalo *(Dicentrarchus labrax)*
Scombridae	Caballa, verdel *(Scomber scombrus)*
Serranidae	Cabra *(Serranus cabrilla)*, Serrano *(Serranus scriba)*
Mullidae	Salmonete de fango *(Mullus barbatus)* Salmonete de roca *(Mullus surmuletus)*
Sparidae	Besugo *(Pagellus cantabricus)* Dorada *(Sparus aurata)*, Pargo *(Sparus pagrus)* Boga de mar *(Boops boops)*
Thunnidae	Atún *(Thunnus thynnus)*, Melva *(Auxis thazard)*
Carangidae	Jurel, chicharro *(Trachurus trachurus)* Palometa blanca *(Trachynotus glaucus)*
Bramidae	Palometa, japuta, besugo negro *(Brama brama)*
Trichiuridae	Pez sable *(Trichiurus lepturus)*
Sciaenidae	Corvina *(Argyrosomus regius)*

Tabla 3. Principales pescados implicados en parasitación por anisákidos que se consumen en España ***(continuación)***	
Clupeiformes	
Salmonidae	Salmón (*Salmo salar)*
Clupeidae	Sardina *(Sardina pilchardus)* Arenque *(Clupea harengus)*
Engraulidae	Boquerón o anchoa *(Engraulis encrasicholus)*
Pleuronectiformes	
Pleuronectidae	Platija *(Platichthys flessus)* Solla de altura *(Pleuronectes platessa)* Fletán *(Hippoglossoides spp.)*
Soleidae	Lenguado *(Solea vulgaris)*
Scophtalmidae	Rodaballo *(Scophthalmus maximus)* Gallo *(Lepidorhombus spp.)*
Escorpeniformes	
Scorpaenidae	Gallineta *(Helicolenus dactylopterus)* Cabracho *(Scorpaena scrofa)*
Triglidae	Rubio *(Trigloporus lastoviza)*
Bericiformes	
Berycidae	Palometa roja (*Beryx decadactylus)*
Lophiiformes	
Lophiidae	Rape *(Lophius piscatorius)*
Anguilliformes	
Congridae	Congrio *(Conger conger)*
Dibranchia	
Loliginidae	Calamar *(Loligo vulgaris)*

tamaño del pez. En la caballa y el arenque se ha estimado que la zona más infestada es la zona pilórica, donde se encuentran entre el 57% y el 81% de todas las larvas[16,17].

En los cefalópodos (calamares y sepias), las larvas suelen asentarse en la pared externa del estómago, aunque también se encuentran en la musculatura del manto[55-58].

En general, se ha venido considerando que el pescado de acuicultura es más seguro debido a que se cría en un entorno controlado. Sin embargo, se han encontrado en algunos casos aislados anisákidos, tanto en las vísceras como en el músculo, en las especies cultivadas. Las vías de transmisión pueden ser por la presencia en el medio marino de hospedadores intermediarios o a través de la alimentación de los peces cultivados con productos parasitados[59]. Se considera que en los peces cultivados con pienso seco apenas existe riesgo de parasitación con anisákidos debido a las condiciones controladas de cultivo. La mayoría de los estudios que se han publicado referentes a la presencia de nematodos en pescado cultivado se han hecho en salmónidos alimentados con pienso[3,28,59-64]. En nuestro país, tanto en estudios de dorada *(Sparus aurata)* como de lubina *(Dicentrarchus labrax)* cultivadas en la región de Murcia tampoco se han detectado larvas de *Anisakis*[65]. Sin embargo, existen posibles riesgos de contaminación debido a la presencia en la vecindad de las piscifactorías de hospedadores definitivos (mamíferos marinos y aves ictiófagas) a través de invertebrados marinos infestados que puedan penetrar en

las jaulas o debido a la alimentación con pescado o subproductos de pescado que contengan larvas vivas. Los datos del estudio APROMAR, realizado en el año 2012 con un muestreo de piscifactorías de Murcia, Cataluña, Comunidad Valenciana, Canarias, Andalucía y Galicia, indican la ausencia de larvas de *Anisakis* concretamente en la lubina, la dorada, el rodaballo y la corvina, independientemente de la estación del año o localización geográfica de la piscifactoría. Este hecho minimiza el riesgo de sensibilización en la población general, aunque no excluye totalmente una hipotética contaminación durante la producción[66]. Sería deseable que en los pescados procedentes de piscifactoría se hicieran seguimientos de este tipo para garantizar la seguridad al consumidor.

Con respecto a los productos derivados del pescado procedente tanto de la pesca extractiva como de piscifactoría (fresco, congelado, fileteado, marinado, ahumado, enlatado, precocinado en boquerones, empanadillas, croquetas, palitos, derivados del surimi, etc.), la supuesta presencia de anisákidos es real y, de hecho, en España dio lugar a un real decreto. En dicha norma se regula que el consumo de derivados del pescado que no vayan a ser sometidos a temperaturas que aseguren la muerte parasitaria, requiere una congelación previa[11]. No contienen, por lo tanto, larvas de anisákidos ni los mariscos ni los peces de río (trucha, panga y carpa, entre otros).

En cuanto a los pescados procedentes de piscifactoría, datos europeos (EFSA 2010) y españoles (APROMAR 2012) indican la ausencia de larvas de *Anisakis* en pescados procedentes de piscifactoría correspondientes a salmón europeo por un lado y lubina, dorada, rodaballo y corvina españoles por otro.

Algunas diferencias geográficas significativas halladas respecto a las prevalencias de sensibilización y alergia a anisákidos se pueden explicar no solo por los hábitos de consumo de pescado (crudos, cocinados, etc.), sino por las diferencias en la prevalencia de parasitación de los pescados consumidos. Así en la tabla 2 se puede ver la diferencia en prevalencia de parasitación de la especie bacaladilla entre la costa mediterránea española (12%) y la costa portuguesa y gallega (entre el 70% y 94%). Un estudio de Rello et al. de 2009 revela que respecto a las anchoas hay mayor prevalencia de *A. simplex* en la zona atlántica respecto a la mediterránea, y dentro de esta área mediterránea, la mayor prevalencia se encontró en el mar de Liguria, comparado con el litoral catalán[67].

3.3. Platos de pescado que entrañan riesgo de adquirir parasitación por anisákidos

En los países occidentales, las especies de anisákidos son prácticamente las únicas que se deben tener en cuenta. Por su dis-

tribución global, los casos de parasitación humana por especies de anisákidos han sido descritos prácticamente en todos los continentes. Sin embargo, si tenemos en cuenta todas las posibles parasitaciones humanas originadas en el consumo de pescado, la opistorquiosis es la diagnosticada con mayor frecuencia, pero su distribución está limitada al Sudeste Asiático, donde solo en Tailandia se estima que más de seis millones de personas sufren dicha parasitación.

En general, las infestaciones por parásitos de peces se asocian a hábitos alimenticios que incluyen el consumo de pescados crudos o insuficientemente cocinados, dado que la parasitación se adquiere al consumir pescado que aloje larvas vivas. Se trata, por lo tanto, de una contaminación biológica de los pescados y no existe riesgo de contagio persona a persona.

Los hábitos de consumo de pescado pueden variar mucho en función de las tradiciones y la cultura culinaria. El problema radica en que los anisákidos concretamente son muy resistentes a condiciones de acidez, temperatura baja, ahumado, etc. Así se consideran platos de riesgo en la transmisión de anisákidos el sushi y sashimi japoneses, los arenques salados o ahumados típicos de Holanda, el gravlax nórdico, el lomi-lomi hawaiano, el cebiche sudamericano y los boquerones en vinagre españoles, entre otros platos que se detallan en la **tabla 4**[3].

Tabla 4. Platos de pescado con riesgo de parasitación

	Denominación del plato
Pescado crudo	**Sushi**, **sashimi** (Japón) **Gravlax de salmón** (Países nórdicos) **Lomi-lomi** (Hawái)
Ahumado a temperaturas bajas, salazón, marinado, escabechado	**Boquerones en vinagre** (España) **Alici marínate** (Italia) **Cebiche** (Sudamérica) **Matjes, rollmops y nieuwe de arenque marinado** (Países nórdicos) **Arenque en salazón** (Países nórdicos) **Arenque, espadín, caballa, salmón, halibut, abadejo, sardina ahumada** (Países nórdicos)
Platos tradicionales insuficientemente cocinados	**Parrilla, plancha, fritura**

Los pescados marinos crudos o poco cocinados entrañan riesgo de parasitación. En nuestro país los boquerones en vinagre son los más tradicionales, aunque se han adquirido en los últimos años nuevos hábitos de consumo de pescado crudo importados de otros países.

3.4. Epidemiología y prevalencia de alergia por anisákidos

3.4.1. Anisakiasis y alergia relacionada

Los datos epidemiológicos son escasos fuera de España y Japón, donde los diagnósticos de alergia se han reconocido desde hace dos décadas y no pasan inadvertidos. En Japón –que es donde más casos de anisakiasis agudas se registran– se calcula que el 10% de las mismas cursan con síntomas de alergia, fundamentalmente urticaria[68]. Dentro del concepto de anisakiasis gastroalérgica en 1977 se describieron 97 casos en urgencias en un área de Madrid con población de referencia de 500.000 habitantes[69], lo que equivale a una incidencia media de 20 pacientes por 100.000 habitantes como mínimo. El factor de riesgo común en la mayoría de los casos fue el consumo de anchoas en vinagre (79/96 pacientes), pero también hubo otros nueve casos asociados a merluza insuficientemente cocinada, dos casos de bacalao crudo y seis de otros pescados poco cocinados.

3.4.2. Prevalencia de sensibilización

En la zona norte de España, en un estudio de prevalencia de urticaria, se pudo constatar que el 12,6% de los donantes sanos procedentes del banco de sangre presentaban inmunoglobulina E (IgE) específica frente a *A. Simplex*[70]. Dentro de los controles, la media de edad de los sensibilizados fue mayor que la de los no sensibilizados.

La Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC) realizó con posterioridad un estudio multicéntrico, publicado en 2001, en el que se describió una prevalencia de sensibilización a *A. simplex* del 13,1% en sujetos sin historia de reacciones alérgicas y del 38,1% en pacientes con episodios previos de urticaria/angioedema[71]. En ambos grupos, la mayor prevalencia de sensibilización se encontraba en el área central de España. En otros estudios españoles se detectó una IgE específica en población sana de entre el 10 y el 25% en los pacientes que acudían a la consulta de Alergología y/o donantes sanos[71-73]. No existen diferencias significativas respecto al sexo, sin embargo, la prevalencia de sensibilización subclínica y clínica se correlaciona positivamente con la edad. Este hecho se puede explicar por el incremento de probabilidad acumulada de contacto con el parásito vivo y su consiguiente sensibilización (a más edad mayor consumo de pescado acumulado). Por otra parte, los hábitos de ingestión de consumo de pescado crudo o poco cocinado también son más habituales en adultos que en niños y adolescentes. En contraposición, también existe una correlación negativa entre el estado atópico y la sensibilización a *A. simplex*.

En España la prevalencia de sensibilización es similar a la hallada en Japón, con un 13-29% de población general sensibilizada[74]. Si lo comparamos con los datos de sensibilización en otros países como Marruecos, Croacia o Noruega, llama la atención que las cifras de prevalencia son mucho más bajas (entre el

0,4% y el 6,6%)[75]. Estos hallazgos se han interpretado como posible reactividad cruzada con otros parásitos o alérgenos alimentarios o inhalatorios (mariscos, ácaros, cucarachas) o como un vestigio de una posible parasitación inadvertida[76]. En este sentido, el trabajo de Gamboa et al. también corroboraría esta segunda hipótesis, ya que entre los hallazgos de IgE específica positiva no correlacionan dicha sensibilización con IgE frente a antígenos de reactividad cruzada como Ani s 3 (véase apartado *Alérgenos de* Anisakis)[77].

La prevalencia de sensibilización subclínica y clínica se correlaciona positivamente con la edad y no existen diferencias en cuanto al sexo.

3.4.3. Prevalencia de alergia

En el País Vasco, *A. simplex* es el principal factor etiológico de urticaria/angioedema en adultos tras la ingestión de pescados y mariscos. Además, se consideró responsable de alrededor del 8% de los casos de urticaria/angioedema agudos atendidos en urgencias[70], lo que supone una prevalencia similar o incluso mayor que otros alimentos considerados tradicionalmente alergénicos, como frutas/frutos secos, mariscos y los propios pescados.

En revisiones de anafilaxia realizadas en el País Vasco y comparando las casuísticas de casi dos décadas (década de 1990

versus años 2000-2010), con 625 casos y 771, respectivamente, se constata que el porcentaje de anafilaxias atribuible a este parásito se mantiene o incluso se incrementa, pues es del 8% y el 11%, respectivamente[3,78]. Estos datos concuerdan con los registrados por el grupo de Zubeldia y Baeza en Madrid, que confirman un incremento tanto en casos de alergia como de sensibilización en 2008 respecto a 1996 (alergia del 16,28% frente al 5,7%; sensibilización del 33,72% vs el 23%)[79]. Llaman la atención estos datos a la vista de que, además, estos autores constatan un incremento en los hábitos de consumir pescado congelado que alcanza casi el 40% del total de interrogados en 2008[79].

4

CLÍNICA: DE LA PARASITACIÓN ANECDÓTICA A UN ALÉRGENO ESTÁNDAR

4. CLÍNICA: DE LA PARASITACIÓN ANECDÓTICA A UN ALÉRGENO ESTÁNDAR

4.1. Los parásitos y la respuesta IgE

El término *parásitos* engloba animales que interactúan con sus hospedadores de formas muy diferentes. Dentro de los parásitos, muchos protozoos –por su estructura simple unicelular– pasan parte de su ciclo vital en células del hospedador, como los hematíes y, en este sentido, se comportan de forma muy similar a las infecciones producidas por bacterias y virus. En contraste, los helmintos son organismos multicelulares, a menudo macroscópicos y que poseen su propio aparato digestivo, nervioso y reproductivo. A diferencia de los protozoos, muchos de ellos no se reproducen en los vertebrados, sino que producen huevos en gran número que van a madurar en el exterior o en hospedadores intermediarios. En las migraciones a través de los tejidos hasta asentarse en el definitivo, el parásito debe adaptarse y, una

vez establecido, debe desarrollar a su vez mecanismos evasivos frente a la respuesta inmunológica del hospedador. En todos estos procesos existe una activa expresión genética que da lugar a moléculas potencialmente antigénicas y que son específicas de la fase del ciclo en la que el parásito se encuentre.

Clásicamente, los parásitos se han considerado inductores de respuestas de hipersensibilidad inmediata mediada por anticuerpos de la clase IgE, y se tiene constancia de que el hombre ha convivido con parásitos desde la prehistoria. La especie humana presenta parasitismos denominados patrimoniales o propios de la evolución filogenética (anteriores a la hominización) y otros parasitismos gananciales o adquiridos recientemente con el dominio del medio y los animales domésticos (hombre recolector-cazador y zoonosis, respectivamente). En la mayoría de las zoonosis –como en el caso de la anisakidosis que nos ocupa– el hombre es un hospedador poco eficaz, entre otros motivos porque, al no ser ingerido por otros animales, bloquea la transmisión en cadena del parásito.

Los helmintos de forma clásica se han asociado con reacciones de hipersensibilidad, dado que la mayoría de las helmintiasis cursan con niveles elevados de IgE total. Como consecuencia de la invasión de antígenos parasitarios extraños al organismo que los aloja (generalmente proteínas o polisacáridos), se produce una sensibilización que Hansen denominó "alergia por invasión" y que consiste en la formación de anticuerpos denominados reagínicos. Ya en la década de 1960 este autor describe

reacciones anafilácticas mortales por inyección de extractos parasitarios a individuos infestados- sensibilizados, e incluso asma por inhalación en trabajadores de laboratorio y en la esposa de un matarife por *Ascaris*. También en este capítulo se describen, por una parte, una prueba de hipersensibilidad, la prueba de Casoni para el diagnóstico de parasitación por *Echinococcus*, y, por otra, casos de anafilaxia por punción o rotura de quistes hidatídicos. *Echinococcus granulosus* es un parásito que no tiene nada que ver con el medio marino, pero que es frecuente en algunas regiones mediterráneas y se considera endémico en España. Este parásito es capaz de producir quistes a nivel visceral, cuya rotura espontánea o traumática puede dar lugar a reacciones que varían desde urticaria/angioedema hasta shock anafiláctico. En nuestro país este parásito se considera un agente etiológico poco frecuente de anafilaxia, pero debe tenerse en cuenta en el diagnóstico diferencial cuando la causa no está bien establecida[76].

A. lumbricoides, que tampoco tiene que ver con el medio marino, es el más cosmopolita de los helmintos humanos, conocido desde la época de los romanos. Es poco común en poblaciones urbanas europeas, incluyendo España. Producen el cuadro conocido como "neumonitis por Áscaris" que se debe a la combinación del proceso parasitario en su paso pulmonar y un cuadro de hipersensibilidad que cursa con sibilancias, disnea, tos, fiebre moderada, eosinofilia transitoria y un patrón radiológico con infiltrados transitorios que sugieren neumonía vírica (sín-

drome de Löeffler). También se han descrito otras manifestaciones mediadas por IgE como urticaria que aumentan con la migración pulmonar y en niños anorexia, espasmos digestivos tipo cólico y alteraciones nutricionales. Otra patología que tener en cuenta en relación con helmintos es la larva migrans visceral, uno de cuyos principales agentes responsables es *Toxocara canis*. Contamina habitualmente a perros y el hombre puede contagiarse por huevos infectivos del suelo o ingestión de tejidos no cocinados de hospedadores paraténicos.

En general, la respuesta IgE frente a parásitos se debe a una activación de tipo policlonal de las células B y, por tanto, solamente una pequeña fracción de esta IgE producida reconocerá antígenos parasitarios. La relación parásito-hospedador es a menudo paradójica dado que la mayoría de las infestaciones importantes cuantitativa y cualitativamente hablando cursan sin reacciones alérgicas. Sin embargo, los fenómenos de alergia asociados a parasitación activa se manifiestan en enfermedades en las que la carga parasitaria es tan baja que incluso resulta difícil aislar y llegar a visualizar el parásito. Ejemplos de este último tipo los constituyen los síndromes PIE (eosinofilias pulmonares tropicales) y exposiciones exógenas ocupacionales (trabajadores de laboratorio con *A. lumbricoides*).

La respuesta anafiláctica pone en riesgo la supervivencia tanto del parásito, que no podrá autoperpetuarse, como la del propio hospedador. Este hecho puede resultar discordante al analizar la relación habitual entre un parásito y su hospedador, que ha

de ser hacia la adaptación mutua progresiva. Por ejemplo, una característica clave de *Ehinococcus granulosus* es su prolongada supervivencia en muchas especies de mamíferos, incluyendo los humanos, lo que indica que produce selectivamente componentes destinados a moderar la respuesta inmune del hospedador. Sin embargo, cuando la relación hospedador/parásito se ha adquirido recientemente en la escala filogenética o cuando el hospedador no es adecuado para el parásito, pueden darse enfrentamientos que alterarían la tendencia natural al equilibrio. Enfocando este tema desde el prisma de la evolución, esta podría ser una explicación al hecho de que una sola larva L3 o unas pocas larvas de anisákidos ingeridas por vía digestiva produzcan reacciones que pongan en riesgo la vida del hospedador y, por lo tanto, la del propio parásito.

La relación parásito/hospedador en el caso de *Anisakis* –al comportarse el humano como hospedador accidental– podría explicar que se produzcan fenómenos de riesgo vital tanto por oclusión como por anafilaxia.

4.2. Los anisákidos y las enfermedades que producen

Anisakis produce fundamentalmente dos cuadros clínicos: la parasitación del tracto digestivo y reacciones alérgicas cuyos

síntomas pueden variar desde los cuadros más leves de urticaria hasta los más graves de choque anafiláctico. Cuando ambas situaciones coinciden en el tiempo hablamos de anisakiosis gastroalérgica (AGA). La exposición cutaneomucosa por contacto o en forma de partículas aerosolizadas ocasiona con mucha menos frecuencia sintomatología de carácter ocupacional, desde rinoconjuntivitis y asma ocupacional, hasta urticaria de contacto y dermatitis alérgica de contacto. Finalmente, hay una serie de patologías que se ven de forma mucho más esporádica y trascienden al ámbito estricto de la alergología, como son gastroenteritis eosinofílica, artralgias, vasculitis sistémicas y patología tumoral, entre otras.

4.2.1. Parasitación o infestación denominada anisakiasis o anisakidosis

Se considera una zoonosis y se adquiere por el consumo de peces o cefalópodos, que alojan larvas vivas, crudos o insuficientemente cocinados, lo que ocasiona una infestación que puede afectar a cualquier individuo expuesto de la población general. Tras una exposición primaria, se produce un estímulo de la respuesta inmune tanto innata como adaptativa **(figura 9)**. En este segundo caso es una respuesta de predominio Th2 con diversos grados de respuesta inflamatoria caracterizada por cambios en la permeabilidad vascular y reclutamiento de células involucradas en la respuesta IgE como mastocitos, basófilos, eosinófilos y estimulación celular T y B con respuesta policlonal. Toda esta respuesta involucra a las células T reguladoras y

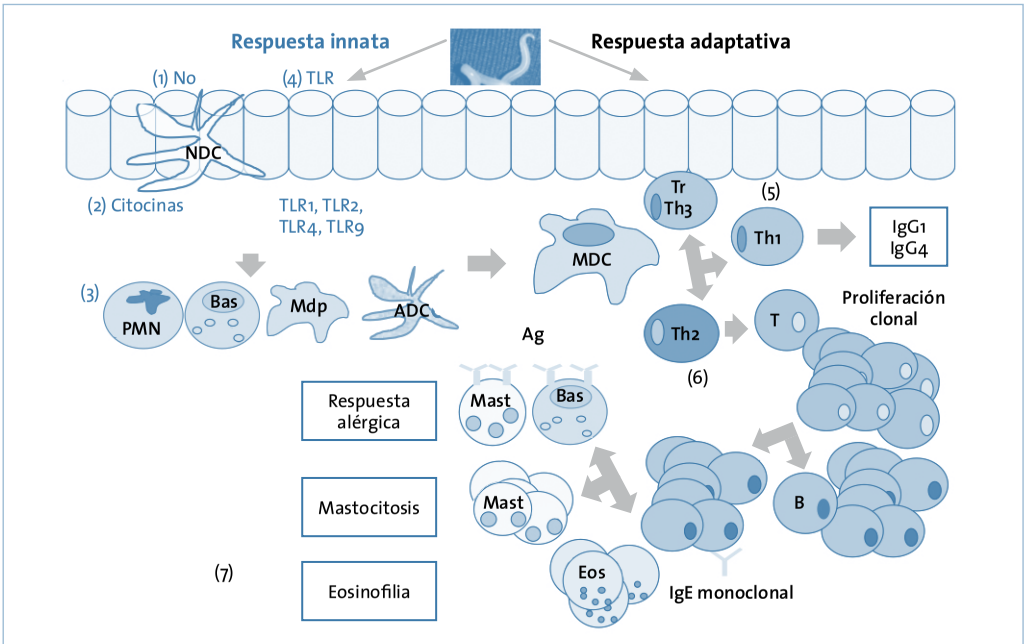


Figura 9. Patogénesis de la respuesta inmune inducida por *Anisakis*.

recluta mastocitos y eosinófilos que colaboran en la muerte y expulsión del parásito[80].

> ***Anisakis* produce la parasitación del tracto digestivo y reacciones alérgicas. Tras una exposición primaria, se produce un estímulo de la respuesta inmune tanto innata como adaptativa de predominio Th2. Esta respuesta involucra a las células T reguladoras y recluta mastocitos y eosinófilos que colaboran en la muerte y expulsión del parásito.**

Los casos de anisakidosis humana descritos constituyen el 97% del total de anisakidosis, y el 3% restante corresponde a seudoterranovosis. Los síntomas dependerán de la parte del tubo digestivo afectada. Hay dos formas clínicas según el grado de penetración en la mucosa. La forma luminal no invasiva y asintomática, que se diagnostica al expulsar las larvas mediante vómitos o por las heces de 10 a 14 días tras ingerir el parásito, y la forma invasiva, que es la predominante en el género *Anisakis*, con dos formas clínicas diferenciadas, según el segmento del tubo digestivo afectado (gástrica o intestinal).

La forma gástrica es la más frecuentemente diagnosticada en la actualidad. Previamente al desarrollo de las técnicas endoscópicas, la proporción entre casos gástricos e intestinales era de 2 a 1, aproximadamente. En Japón la forma gástrica ha sido

la más frecuente (el 95% de los casos) mientras que en Europa y EE. UU. ocurría todo lo contrario. Estas diferencias se han atribuido al uso de las técnicas endoscópicas y a la concienciación creciente de la enfermedad por parte de los médicos japoneses[81]. Una vez ingeridas por el hombre las larvas penetran a través de la mucosa del tracto gastrointestinal gracias a la acción de enzimas peptidasas. Además de las formas gástrica e intestinal, puede darse una tercera forma llamada ectópica[76,81].

Forma gástrica. Esta forma se presenta a las pocas horas de la ingestión de pescado parasitado (entre 6 y 12 habitualmente) cuando la larva penetra en la pared gástrica (frecuentemente limitada a mucosa o submucosa). La localización gastroduodenal es la más frecuente, y representa alrededor del 72% de los casos. Cursa con epigastralgia intensa, náuseas y vómitos, que aparecen a las pocas horas de la ingestión del pescado parasitado. Con menor frecuencia aparecen síntomas más inespecíficos como pirosis, hematemesis, febrícula, etc. La analítica puede reflejar leucocitosis con eosinofilia. Los estudios endoscópicos revelan que las larvas y lesiones asociadas suelen distribuirse a lo largo del cuerpo del estómago, predominantemente sobre la curvatura mayor. Se han descrito tres tipos de lesiones en el sitio de penetración: *a)* las larvas forman un tumor evanescente caracterizadas por una elevación central; *b)* las larvas están dentro de una zona edematosa, y *c)* larvas que no originan cambios en la mucosa penetrada. Con frecuencia se objetivan pequeñas áreas hemorrágicas o erosiones en el sitio de penetración. No son frecuentes los estudios histoló-

gicos de esta fase, puesto que la endoscopia es diagnóstica y terapéutica. En los casos con estudio anatomopatológico descrito, se objetiva la larva intacta en una submucosa edematosa rodeada de neutrófilos y eosinófilos. Cuando la inflamación es muy intensa puede afectar a la capa muscular y serosa del estómago[76].

Algunos pacientes evolucionan a la forma crónica con dolor abdominal, dispepsia, vómitos y anorexia, que pueden persistir meses o años y detectarse de forma casual en biopsias.

Está indicada la endoscopia cuando un paciente refiere un dolor incoercible al cabo de menos de 12 horas de la ingestión de pescado crudo o poco cocinado. En estos casos la endoscopia es diagnóstica y terapéutica. En la **figura 10** se ve una imagen endoscópica real en un caso que cursó solo con abdominalgia, sin síntomas de alergia tras ingestión de merluza insuficientemente cocinada al microondas.

La forma gástrica es la más frecuentemente diagnosticada actualmente; aparece entre las 6 y 12 horas posteriores a la ingestión de pescado crudo.

Forma intestinal. La forma intestinal representa entre el 20% y el 30% de los casos. La clínica es de abdomen agudo (similar a una apendicitis, peritonitis u obstrucción intestinal), con signos de irritación peritoneal, náuseas, vómitos, estreñimien-

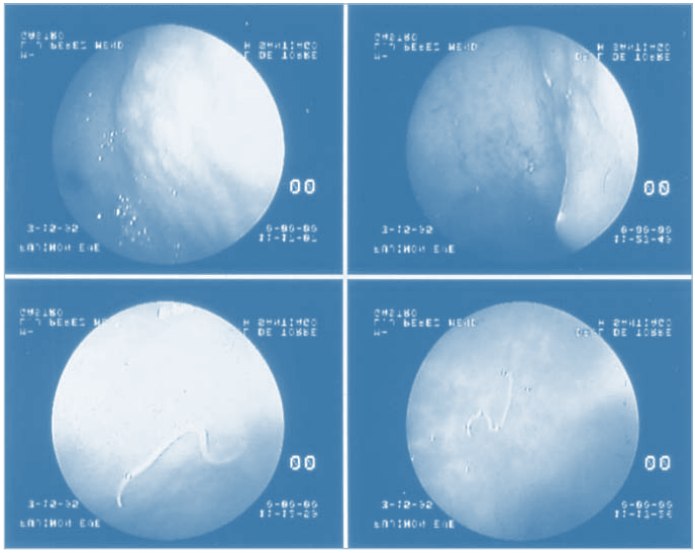


Figura 10. Imagen endoscópica de anisakiosis gástrica aguda con extracción de dos larvas identificadas posteriormente como *A. simplex* tercer estadio larvario.

to o diarrea, y rara vez fiebre. Los síntomas aparecen más tardíamente, generalmente en las 48-72 horas siguientes a la ingestión de las larvas. También puede cursar con alteración del ritmo deposicional: estreñimiento o diarrea[76]. La fiebre debe hacer sospechar sobreinfección bacteriana. Los hallazgos de laboratorio suelen mostrar leucocitosis con desviación izquierda y, generalmente, no existe eosinofilia. Se han descrito cuadros obstructivos y asociación con artralgias[82-84]. Topográficamente, las lesiones suelen aparecer en el íleon terminal, dentro

de los 50 cm[85] que preceden a la válvula de Bahuin, y pueden simular una apendicitis aguda o enfermedad de Crohn. En la mayoría, el líquido ascítico tiene un alto contenido en eosinófilos, por encima del 30%[86]. También se pueden encontrar cambios inflamatorios similares a los que se veían en la afectación gástrica, consistentes en petequias, edema de la serosa y del mesenterio. Las lesiones histopatológicas son muy similares a las gástricas, pero generalmente más marcadas.

Tanto la forma gástrica como la intestinal, en unos pocos pacientes, puede evolucionar a la forma crónica, con dolor abdominal, dispepsia, vómitos y anorexia, que pueden persistir meses o años. Las endoscopias de estos casos crónicos revelan imágenes sugestivas de tumor gastrointestinal o ulcus gástrico. Generalmente por sus manifestaciones leves o subagudas, estas formas crónicas suelen detectarse accidentalmente al realizar endoscopias o tratar quirúrgicamente otras molestias.

La forma intestinal aparece entre las 48 y 72 horas siguientes a la ingestión de pescado crudo y su sintomatología varía desde clínica compatible con gastroenteritis hasta oclusión intestinal. Por su localización se puede confundir con apendicitis.

Forma extragastrointestinal o ectópica. En ocasiones, las larvas perforan completamente la pared gástrica o intestinal y alcanzan la cavidad abdominal y migran a diferentes localiza-

ciones. Se han descrito casos de anisakiasis mesentérica, pulmonar, pancreática, hepática e, incluso, amigdalar, entre otras localizaciones exóticas. Aunque la mayoría de los casos cursan con clínica leve, en ocasiones, los síntomas pueden revestir relativa gravedad. Las lesiones histológicas son de tipo absceso-granuloma y, generalmente, se localizan en el punto de perforación de la larva. En los casos de afectación pulmonar, es frecuente el derrame pleural acompañado de cavitaciones, pequeños nódulos y eosinofilia tardía. El fluido extraído por pleurocentesis muestra eosinófilos y neutrófilos abundantes. Otras veces, las larvas son capaces de remontar desde el estómago hasta la orofaringe, y producen una vómica que generalmente conduce a la expulsión de la larva con la tos[76]. La mucosa orofaríngea es una localización más frecuente en los casos de seudoterranovosis descritos en EE. UU.[87], mientras que en la anisakidosis son la mucosa esofágica, la cavidad abdominal, el epiplón mayor y el mesenterio.

La forma ectópica afecta fundamentalmente al esófago, cavidad abdominal, epiplón mayor y mesenterio en el caso de anisakidosis. Sin embargo, en seudoterranovosis descritas en EE. UU. la más frecuente es orofaríngea.

También se han descrito casos de parasitación sin síntomas de alergia, lo que explicaría sensibilizaciones subclínicas.

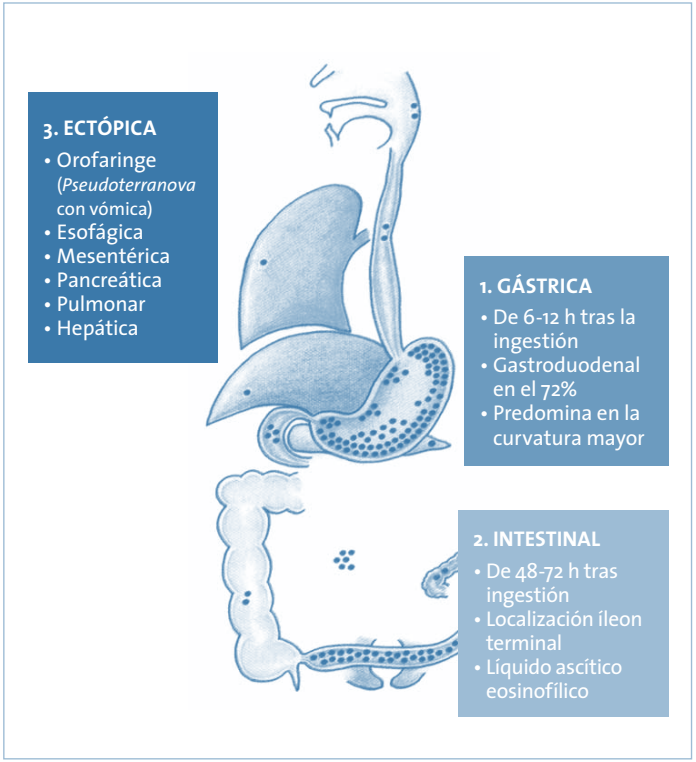


Figura 11. Formas de anisakidosis.

Por otra parte, en nuestro país también se han descrito episodios de parasitación sin que se acompañe de síntomas de alergia, lo cual explicaría estas sensibilizaciones subclínicas[3,88] **(tabla 5)**.

Tabla 5. Parasitaciones sin clínica de alergia

Autor	Región	Año	Número de pacientes y localización
Canut et al. 1996	Vitoria	1996	1 gástrica
Olveira et al. 1999	Madrid	1999	5 gástricas 2 intestinales
López-Peñas et al. 2000	Córdoba	2000	13 intestinales
Castán et al. 2002	Pamplona	2002	8 gástricas 13 intestinales
Repiso Ortega et al. 2003	Toledo	2003	10 gástricas 15 intestinales

4.2.2. Anisakiosis gastroalérgica o gastroalergia

Se define como un cuadro alérgico agudo típicamente acompañado de síntomas digestivos gástricos y es la consecuencia de la suma de los síntomas de una parasitación aguda y su correspondiente respuesta de anticuerpos desencadenada por el parásito. Depende también en gran medida de los hábitos dietéticos de la población el que se produzca en mayor o menor

frecuencia, dependiendo de los países o incluso regiones dentro de un mismo país. En Japón, de todas las anisakiosis (infestaciones con parásito vivo) se calcula que aproximadamente el 10% de ellas se acompañan de urticaria. En nuestro país se ha relacionado con el consumo de boquerones en vinagre en la región centro[33,89]. La AGA se define como una reacción aguda de urticaria/angioedema o anafilaxia tras el consumo de pescado crudo que contenga larvas de *A. simplex*. Los síntomas de alergia se acompañan de clínica digestiva de intensidad variable y duración breve (habitualmente que no supera las 24-48 horas). La sintomatología gástrica refleja el efecto producido por la larva al intentar penetrar en la mucosa gástrica, momento en que libera los enzimas digestivos y provoca dolor epigástrico, náuseas y vómitos[34,35,76,89]. En algunas ocasiones se acompaña también de diarrea. Autores japoneses habían relacionado estas reacciones con una verdadera respuesta alérgica IgE mediada de localización exclusivamente a nivel digestivo[90]. Los estudios de la AGA confirman que ya el primer día se induce una respuesta específica IgM. El resto de los isotipos (IgE, IgA, IgG, IgG4) presentan una elevación al cabo de un mes[91]. Esta estimulación inmunológica policlonal se produce incluso aunque se extraigan las larvas en pocas horas tras la parasitación. Esta forma de reacción probablemente evita las formas crónicas o la parasitación intestinal, ya que se ha demostrado que esta reacción está involucrada en la patogénesis de la expulsión larvaria[80,92,93].

Los primeros síntomas de alergia pueden aparecer desde minutos hasta las primeras 24 horas tras la ingestión del pescado sospechoso. Los síntomas digestivos aparecen con una latencia similar, aunque discretamente más precoz, aunque no necesariamente antes de los síntomas alérgicos. Algunos pacientes con clínica predominantemente digestiva desarrollan un eritema facial, en el cuello y la región torácica superior "en esclavina" sin prurito asociado y sin refrendo fisiopatológico aclarado[34].

Los factores de riesgo para la AGA tienen una clara asociación con el consumo de pescado o productos derivados crudos o mínimamente procesados[3,76,94,95]. Para la AGA, igual que para la alergia, existe una asociación positiva con la edad y negativa con la atopia[96].

Los alérgenos más implicados en la parasitación son Ani s 1 y Ani s 7, como se verá más adelante en el apartado correspondienteg[7,98].

Se han realizado test de provocación oral con larvas no viables en estos casos de AGA sin producir reacción alguna[99].

En la gastroalergia los primeros síntomas de alergia pueden aparecer desde minutos hasta las primeras 24 horas de la ingestión de pescado.

4.2.3. Alergia a 'A. simplex' ingerido con los alimentos

Cuadro alérgico agudo que se produce como respuesta a un contaminante biológico del pescado *(Anisakis)* y no frente a las propias proteínas del pescado. No ocurre en la población general, sino en aquellos que desarrollan la respuesta de hipersensibilidad, y no requiere que el pescado esté crudo en el momento de su consumo. Se da, generalmente, en sujetos adultos que no han presentado a lo largo de su vida alergia a pescados ni a otros alimentos. Los síntomas más frecuentes son los cutáneos, aunque también hay casos de anafilaxia (acompañados de síntomas respiratorios, digestivos, hipotensión y hasta choque). Siempre deberían excluirse, por una parte, la sensibilización a proteínas del propio pescado entre otras causas de alergia que pudieran concurrir en el tiempo y, por otra, una parasitación aguda cuando aparecen síntomas digestivos.

Urticaria por alergia a 'A. simplex' ingerido con los alimentos

Fueron los autores japoneses los primeros que describieron casos de urticaria que ocurrían en el contexto de la parasitación aguda gastrointestinal por *A. simplex*. En 1990 Kasuya et al. sugieren que este parásito debería considerarse un factor etiológico que descartar en las reacciones alérgicas inducidas por pescado. Posteriormente, en 1995, se describió el primer caso de anafilaxia recidivante inducida por *A. simplex* con confirma-

ción etiológica[100,101]. A lo largo de los últimos 20 años *A. simplex* ha sido identificado como una causa de reacciones alérgicas mediadas por anticuerpos IgE que incluyen desde cuadros leves de urticaria/angioedema hasta cuadros graves de anafilaxia con compromiso vital. Algunos autores –como los japoneses– hablan de síndromes combinados entre parasitación y alergia (gastroalergia). Se han descrito también en relación con este parásito otros cuadros de origen inmunológico como gastroenteritis eosinofílica, enfermedades reumáticas y ocupacionales que ampliaremos más adelante. Finalmente, se han descrito casos de sensibilización a *A. simplex* caracterizados por la presencia de IgE sin relación aparente con la sintomatología de alergia ni parasitación, tanto en Europa como en Japón[76,80].

Actualmente, en el Norte de España hay descritos cientos de casos de alergia a *A. simplex* en relación con la ingestión de pescado. La mayoría de los casos presentan clínica con afectación exclusivamente de tipo cutáneo (urticaria/angioedema), sin manifestaciones digestivas ni otros órganos diana implicados. Las características inesperadas de los pacientes alérgicos a este parásito, si las comparamos con otros alérgenos alimentarios convencionales, son: la falta de antecedentes de atopia en su historial y su media de edad elevada (mayores de 40-50 años). Otras dos características novedosas extraídas de las historias clínicas son: *a)* la asociación de los síntomas por parte de los pacientes y sus médicos de familia con medicamentos, que posteriormente se descarta por pruebas cutáneas y de exposición, y *b)* que el episodio se inicie de forma tardía (entre

30 minutos y 6 horas) y en muchas ocasiones de noche, por la costumbre española de cenar pescado[76,80].

En al País Vasco, *A. simplex* es el principal factor etiológico de urticaria/angioedema en adultos tras la ingestión de pescados y mariscos. Además, se consideró responsable de alrededor del 8% de los casos de urticaria/angioedema agudos atendidos en urgencias, lo que supone una prevalencia similar o incluso mayor que otros alimentos considerados tradicionalmente alergénicos, como frutas/frutos secos, mariscos y pescados[70]. Una vez más, los datos de los autores japoneses coinciden con nuestros hallazgos en el sentido de que la alergia al *A. simplex* es más frecuente que la ocasionada por el propio pescado en la población adulta[74]. En los últimos años se han descrito nuevos casos de urticaria en diversos países europeos similares a los del País Vasco (Italia y Portugal) en relación con pescados cocinados[3], mientras que en el centro de España (Madrid y provincias limítrofes) se producen más reacciones de gastroalergia que tienen que ver con el pescado crudo[89].

La urticaria aguda afecta al 20% de la población a lo largo de su vida, y se da particularmente en adultos jóvenes y, aunque suele ser autolimitada, requiere atención y vigilancia porque puede ser una manifestación de inicio de una anafilaxia o asociarse a angioedema[80]. Dado que existe un porcentaje elevado de prevalencia de urticaria y también de sensibilización subclínica a *Anisakis* en la población general, la coincidencia de ambas circunstancias puede hacer sobreestimar los diagnósticos

de urticaria por alergia a este parásito. En cualquier caso, una anamnesis exhaustiva es importante, y los estudios multicéntricos realizados tanto en España como en Italia, junto con diversas publicaciones, demuestran que los hábitos de consumo de pescado difieren en las diferentes regiones, incluso dentro de un mismo país[71,102-104]. Los valores de IgE específica son más elevados en los casos (clase mayor a 2 o 3) respecto a los sensibilizados, como se verá en el apartado de diagnóstico.

Anafilaxia por alergia a 'A. simplex' ingerido con los alimentos

La primera paciente de alergia a este parásito descrita en Europa había presentado precisamente varios episodios repetidos de anafilaxia etiquetada de idiopática, que en una anamnesis exhaustiva arrojaba el dato de que siempre ocurría tras la ingestión de merluza *(Merluccius merluccius)*. Era una gran consumidora de pescado y refería buena tolerancia de la misma variedad de pescado de forma habitual entre los episodios. Unos valores de IgE total altos en varias ocasiones, junto con una determinación de IgE específica positiva frente a *A. lumbricoides*, sin evidencia de infestación, alertaron sobre la posible implicación de parásitos del pescado en los cuadros de anafilaxia recidivante. El diagnóstico se basó en la realización de pruebas cutáneas –mediante prueba de prick– con un extracto somático propio tras identificación del parásito por parte del Dr. Gibson, del Museo de Historia Natural de Londres. La sospecha diagnóstica se confirmó mediante la determinación

de IgE específica –comercializada casualmente desde 1994 en España (CAP, Pharmacia)–, liberación de histamina y estudios de inmunotransferencia con la colaboración del Dr. Moneo[101].

Desde 1995, en España se han descrito tantos casos de alergia al parásito *A. simplex* que se ha convertido en un antígeno más que incluir en las baterías habituales de pruebas para el estudio de alergia alimentaria, anafilaxia e, incluso, de alergia a medicamentos cuando se descartan los supuestamente implicados[76,80].

Aproximadamente, un tercio de los pacientes con alergia a *A. simplex* presentan anafilaxia. Los primeros síntomas aparecen de forma rápida, entre los primeros 30 minutos y las primeras 6 horas tras la ingestión del pescado. Por lo general, los pacientes refieren varios episodios, con una media de 2,5 en el momento de la consulta. De entre las manifestaciones clínicas de una serie de 67 casos destacan los siguientes síntomas: en todos los casos urticaria y/o angioedema, clínica digestiva (vómitos, diarrea y dolor abdominal) en el 40%, disnea en el 18% y shock anafiláctico con hipotensión en el 13%[7,76,80,103]. En cuanto a la gravedad de las manifestaciones, destaca el hecho de que más del 50% de los pacientes requirieron consulta en servicio de urgencias y casi el 10% ingreso hospitalario, incluyendo un caso de parada respiratoria grave.

En revisiones realizadas en el País Vasco de episodios de anafilaxia atribuibles a este parásito y comparando las casuísticas de casi dos décadas, el porcentaje se mantiene en la edad

adulta, y supone, aproximadamente, el 10% de todas las anafilaxias[7,8] **(figura 12)**.

En los casos de anafilaxia por *A. simplex* no se cumplen los considerados factores de riesgo habituales en alergia a alimentos que incluyen: edad joven, polisensibilizados (base atópica), presencia de asma incontrolada, reacciones graves previas con alimentos e ingestiones fuera del domicilio. Por el contrario, los pacientes con síntomas graves inducidos por este parásito no presentan antecedentes de enfermedades atópicas y el pico de edad se detecta entre los 40 y los 60 años[7,6,8,10,103]. En estos mismos estudios un análisis de regresión logística confirma para este grupo de pacientes (adultos con anafilaxia) como factores de riesgo la edad y los valores de IgE específica. Posteriormente, un estudio

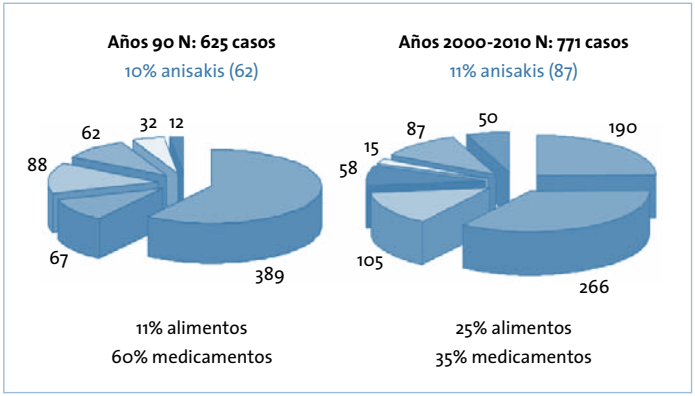


Figura 12. Causas de anafilaxia en adultos (hospital Santiago Apóstol, Vitoria).

italiano describe que los pacientes alérgicos a este parásito se comportan de forma similar, de modo que los atópicos presentan menos riesgo de alergia a *Anisakis* y se va incrementando el riesgo con la edad y el consumo de pescado crudo[104].

La historia clínica de la alergia a *A. simplex* no es tan clara como pudiera serlo en otro tipo de alergia alimentaria, ya que en muchas ocasiones los pacientes no asocian sus síntomas a la ingestión del pescado por presentar tolerancia al mismo previamente durante décadas y entre episodios. Un hecho que hay que tener en cuenta en la anamnesis es la recogida de factores favorecedores, ya que en un porcentaje de los episodios concursa algún factor de este tipo, como puede ser la toma de antiinflamatorios no esteroideos (AINE), hipotensores (IECA [inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina], betabloqueantes), antiácidos y alcohol, entre otros[8]. De 28 casos de anafilaxia interrogados sobre la posible presencia de dichos factores, en la mitad se encontró alguno de ellos. En ocho casos se constató la toma de AINE de forma concomitante, ejercicio en 2 y alcohol en 4 (en algunos más de un cofactor). De entre los hipotensores, en un caso IECA y en otro betabloqueantes[103].

Estos factores favorecedores se describieron inicialmente en relación con el consumo de harinas y ejercicio junto con AINE. Posteriormente, se ha demostrado que en algunas ocasiones el consumo del alimento junto con el cofactor incrementa de forma importante la gravedad del cuadro inicial, y que los fármacos implicados no pertenecen solo al grupo de los AINE,

sino que en la población adulta los hipotensores también están implicados[105,106]. Más recientemente, han resurgido estos casos con otros alérgenos alimentarios, como las proteínas transportadoras de lípidos (PTL), rosáceas y alfa gal, presente en carnes rojas y lácteos[106-108].

Dentro de la anamnesis de un episodio de urticaria/angioedema/anafilaxia, en un paciente adulto sin historia de alergia alimentaria previa, interrogar sobre la ingestión de pescado y posibles cofactores en las horas precedentes parece una pregunta obligada a la vista de estos datos.

Este parasito se ha considerado en los últimos años un alérgeno oculto[109], con casos descritos en Francia, Italia, Portugal y España, con datos similares a los descritos en el País Vasco, no solo en Europa, sino también en Japón[3]. Los casos procedentes de Italia y Portugal son similares a los del País Vasco en el sentido de que describen patología asociada a pescado cocinado, mientras que en la zona centro de España se siguen viendo más casos de gastroalergia inducidos por pescado crudo. En la **tabla 8** se resumen algunos artículos de diferentes procedencias[7,33,96,100,102,110-134].

En cuanto a la contribución de este parásito al total de las anafilaxias, en los estudios del País Vasco de la década de 1990, *Anisakis* suponía el 10% de las anafilaxias en adultos, mien-

tras que el resto de alimentos suponía el 11%. Por ejemplo, el pescado era la causa en 4 casos frente a 65 de *Anisakis*. El 93% habían requerido tratamiento en urgencias y el 61% de los pacientes presentaba una edad entre 40 y 59 años[103]. En una serie de anafilaxias registradas en urgencias en Alcorcón (Madrid), tras analizar 213 casos, encontraron también un 10% atribuible a *Anisakis*, aunque se incluía población pediátrica y el total debido a alimentos subía en este caso al 28%[126]. En un estudio multicéntrico llevado a cabo en Italia sobre anafilaxia inducida por alimentos en adultos, PTL es el alérgeno que más anafilaxia produce y *Anisakis* está en una proporción de 19/1 respecto a PTL[114]. En el estudio descrito en Corea de 10 casos de alergia, el 30% presentaban anafilaxia y el 30%, molestias digestivas; la manifestación más frecuente era la urticaria[116].

Teniendo en cuenta que antes de 1994 nuestros 62 pacientes alérgicos a *A. simplex* se incluirían en el grupo de idiopáticos, parece interesante comparar nuestra serie con otras de anafilaxia idiopática[49]. En este sentido, otras series difieren en cuanto a antecedentes de atopia, ya que obtienen unos porcentajes más elevados de pacientes atópicos frente al 14,5% para *Anisakis*.

Los porcentajes descritos de manifestaciones cutáneas, respiratorias e hipotensión/síncope son muy comparables a otras series de anafilaxia (100%, 39% y 23%, respectivamente). Sin embargo, los síntomas digestivos (74%) son los más frecuentes después de los cutáneos. No podemos descartar que algunos

episodios de anafilaxia pudieran estar en relación con parasitaciones activas, ya que parece ser una patología infradiagnosticada en nuestro país. Otra teoría sería que el aparato digestivo se comportara como un órgano de choque importante para estos antígenos, como ocurre en otros casos concretos, por ejemplo, el respiratorio en caracoles y mariscos. En este sentido, se ha demostrado que la expulsión de los helmintos condiciona cambios en la mucosa digestiva, fundamentalmente controlados por citoquinas del grupo Th2, e inducen mastocitosis y eosinofilia locales con el fin de evitar el establecimiento de parásitos[80]. En experimentación animal, se ha comprobado que la administración intravenosa de extractos parasitarios induce lesiones hemorrágicas a nivel digestivo y algunos hallazgos radiológicos sugieren también este tipo de reacción órgano-específica.

En la **tabla 6** se pueden ver detallados los casos descritos de alergia a este parásito con especial mención a los de anafilaxia que se han descrito de forma mayoritaria en nuestro país.

En los últimos años hemos asistido a numerosas descripciones de nuevos cuadros de alergia y, entre ellos, *A. simplex* se ha descrito como causante de síndrome de Kounis[135] y de prurito crónico que mejoró exclusivamente con 2 ciclos de tratamiento con albendazol[136].

Tabla 6. Casos descritos de alergia a *Anisakis simplex* con especial mención a la anafilaxia

País	Año	Autor	Total	Anafilaxia
Egipto	2000	Aly	2	-
Francia	2002	Pecquet	3	-
Francia	2002	Magnaval	1	-
Italia	2011	AAITO-IFIACI *anisakis* consortium	66	-
Italia	2009	Asero	1	1
Italia	2008	Ventura	10	3
Italia	2002	Foti	43	-
Italia	2001	Scala	1 (ocupacional)	-
Italia	2000	Purello-D'Ambrosio	14 (ocupacional)	-
Japón	2011	Hoshino	1	1
Japón	2006	Kameyama	1	-
Japón	1990	Kasuya	1	-
Corea	2009	Choi	10	3
Portugal	2008	Falcao	Estudio epidemiológico de sensibilización y urticaria	-
Sudáfrica	2006	Niewenhuizen	43 (ocupacional)	-
España	2009	Moro Moro	5	5
España	2007	Añibarro	54	22
España	2006	Armentia	8 (ocupacional)	-
España	2002	Audicana	150	39

Tabla 6. Casos descritos de alergia a *Anisakis simplex* con especial mención a la anafilaxia *(continuación)*

País	Año	Autor	Total	Anafilaxia
España	2001	Domínguez-Ortega	3	3
España	2001	García	75	12
España	2001	Gracia-Bara	17	6
España	2000	Audicana	67	18
España	1999	Mendizabal	36	-
España	1998	Armentia	2 (ocupacional)	-
España	1998	Añibarro	1 (ocupacional)	-
España	1998	Cuende/ Audicana	3 urticarias y síntomas reumotológicos	-
España	1998	Daschner	11	-
España	1998	Gómez/Tabar	8 dtco. Retrospectivo de gastroenteritis eosinofílicas	-
España	1998	Rosel Rioja	2	-
España	1997	Carretero	1 (ocupacional)	-
España	1997	Añibarro	1 (ocupacional)	-
España	1997	Moreno-Ancillo	23	5
España	1996	Fernández de Corres/ Audicana	28	17
España	1995	Audicana	1	1

El cuadro alérgico agudo se desencadena habitualmente entre 15 y 30 minutos y de 2 a 6 horas tras comer pescado. Es más frecuente que tenga lugar en sujetos adultos, entre los 40 y 70 años y en muchas ocasiones la reacción se atribuye a medicamentos u otros alimentos dado que los sujetos habían tolerado estas mismas variedades de pescado a lo largo de toda su vida.

4.2.4. Exposición antigénica a través de productos derivados de la pesca

En los casos de alergia alimentaria en general, el tratamiento habitual es la evitación; sin embargo, alrededor del 50% de los individuos afectados experimentan alguna exposición accidental y reacciones cada 3-5 años con alérgenos ocultos en restaurantes o en relación con alimentos procesados[46]. Algunos alérgenos de *A. simplex* son muy resistentes al calor y a la congelación[96,127] y, por lo tanto, los tratamientos que aseguran la muerte larvaria no garantizan, sin embargo, una protección frente a los episodios de alergia. Dado que la alergenicidad de las larvas se conserva tras el congelado, esto explicaría por qué algunos pacientes presentan síntomas con pescado congelado[137]. Los alérgenos de *A. simplex* pueden estar presentes en la musculatura comestible de los peces, en áreas cercanas a la larva, de tal modo que los propios alérgenos presentes en

esta porción de pescado pueden inducir alergia sin necesidad de ingerir la propia larva[80,138].

Estudios realizados con filetes de merluza artificialmente parasitados con *A. simplex*, expuestos a diferentes tratamientos térmicos y microondas, y finalmente estudiados a microscopia electrónica confirman que la mayoría de estas larvas no presentan cambios aparentes en su estructura ni disrupciones en su cutícula[139]. En los casos en los que se encontraba alguna rotura en la larva, los antígenos permanecían dentro de ella.

De todo lo anteriormente expuesto, se deduce que productos derivados de la pesca, derivados del surimi (gulas, sucedáneos de chaca), palitos de pescado, croquetas, empanadillas y sopas, entre otros, pueden contener antígenos reconocibles por sujetos sensibilizados.

No se han descrito riesgos potenciales en aceites procedentes de pescados hasta la fecha.

4.2.5. Otras enfermedades asociadas a la exposición a 'A. simplex'

- **Gastroenteritis eosinofílicas** que hubieran quedado sin identificar de no sospechar dicha causa. Se explicarían por larvas vivas que la perforan la pared intestinal y su posterior encapsulación. En caso de alojo a nivel peritoneal puede inducir ascitis eosinofílica. En las biopsias se pueden

encontrar vestigios de las larvas. En Navarra se describió en 1998 un caso de gastroenteritis eosinofílica por *Anisakis* tras revisión de 10 biopsias realizadas entre 1989 y 1996[121]. Entre los años 1997 y 2011 se revisaron 6 casos de enteritis eosinofílica registrados en Teruel que requirieron laparotomía urgente, de los cuales uno era originado por *Anisakis*[140].

- **Síntomas reumatológicos** asociados a esta sensibilización se han descrito desde los primeros casos de parasitación y, posteriormente, también en relación con cuadros alérgicos, pero son muy esporádicos. Estos pacientes presentan de forma simultánea una artritis reactiva (con sus consiguientes reactantes de fase aguda positivos) junto con manifestaciones cutáneas. En uno de los pacientes se pudo comprobar que una parte de la pieza de merluza ingerida –que el paciente conservó congelada y proporcionó con posterioridad– contenía *Anisakis*[117]. Existe escasa bibliografía que relacione cuadros de urticaria/angioedema con artralgias y menos aún con anafilaxia.

- **Síndrome nefrótico:** Se ha descrito un caso de síndrome nefrótico en una mujer de 60 años tres semanas después de sufrir un episodio de urticaria/angioedema tras ingestión de anchoas. Previamente, se había descrito este síndrome en relación con algunas infecciones helmínticas, especialmente esquistosomiasis[141].

- **Síndromes de activación mastocitaria y mastocitosis:** Los mastocitos son las células clave en la respuesta alérgica,

ya que liberan los mediadores inflamatorios responsables de los síntomas de alergia. En una serie de mastocitosis de adultos y niños se realizó un estudio prospectivo para evaluar la prevalencia de alergia y su impacto en la historia natural de la enfermedad mastocitaria. Se estudiaron 136 adultos con una edad media de 43 años y 47 niños con edad media de 8 años. Solo en 36 pacientes se confirmó clínica de anafilaxia concomitante (el 22% de adultos y el 6,4% de niños). La frecuencia de sensibilización a *Anisakis* fue del 26% en adultos, y solo el 13,6% de los pacientes presentaron sintomatología asociada. En niños, la IgE frente a *Anisakis* fue negativa en todos los casos[142].

- **Clínica ocupacional:** Se han descrito casos de alergia ocupacional tanto en España[8,109,111-115,103] como en Italia[131,133] y Sudáfrica[129]. Los casos de **rinoconjuntivitis** y **asma** ocupacional ocasionados por *Anisakis* se han descrito en pescaderos, pescadores y trabajadores de procesadoras y/o factorías de pescado, una mujer cocinera y en granjeros expuestos a harinas de pescado. En una revisión reciente sobre alérgenos ocupacionales se incluye este parásito, pero el hecho de que se describa con poca frecuencia hace suponer que la sensibilización por vía inhalatoria es menos frecuente que la oral, o que permanece sin diagnosticar[144]. Apoyando la hipótesis de patología infradiagnosticada, un estudio sudafricano demuestra que el 50% de los pescadores están sensibilizados a *A. simplex*[129].

- De forma similar, se han descrito **dermatitis de contacto proteínicas** por este parásito en trabajadores de restauración y trabajadores en contacto con pescado. Pero también está confirmada la afectación de una ama de casa con respuesta tipo I (IgE mediada) y tipo IV (retardada)[111]. Por ello, las amas de casa podrían sumarse a la población en riesgo de sensibilizarse como otros profesionales antes descritos. Estudios de dermatitis de contacto proteínica llevados a cabo en ratones demuestran que la IL-13 desempeña un papel decisivo en la respuesta de dermatitis proteínica, mientras que IL-4 es determinante en los casos de anafilaxia[145]. En una revisión de dermatitis proteínica de contacto en nuestro país, se confirma que *Anisakis* está entre los factores implicados, pero en menor proporción que las proteínas del propio pescado (1/9). El pescado como tal es la primera causa, seguido del látex y de los vegetales, de modo que se invierten los resultados respecto a las reacciones IgE mediadas[147].

Como colofón, diversas profesiones se han asociado con el riesgo de sensibilizarse por vía inhalatoria a este parásito, entre las que se encuentran: pescadores y pescaderos[8,111,113], procesadores de pescado[133], trabajadores del zoos y circos que alimentan con pescado a otros animales, granjeros que manejan harinas de pescado[112], cocineros, camareros y amas de casa[111,148], en cuyos casos se confirma que *A. simplex* es más sensibilizante que el propio pescado.

Profesiones asociadas a alergia a *Anisakis* son aquellas que manipulan pescado, tanto en capturas, procesado, venta, restauración como alimento de otros animales y harinas en forma de piensos.

Posiblemente, se deberían tener en cuenta medidas de protección de la piel y de las mucosas para los trabajadores tanto de producción de pescado (pesca extractiva y acuicultura, en las que ya se incluyen más de 38 millones de personas), a lo que habría que añadir otras profesiones asociadas al sector y amas de casa, entre otros.

4.3. Factores moduladores de la reacción alérgica: cofactores

Existen grandes diferencias geográficas y ambientales –no solo entre países, sino incluso dentro de un mismo país– que condicionan la exposición a productos derivados de la pesca. Estas diferencias, junto con los hábitos de consumo de pescado, influyen, sin duda, en el patrón tanto de parasitación como de alergia y sensibilización a *Anisakis* procedente de los alimentos.

Es evidente que a lo largo de las últimas décadas se ha incrementado la alergia a alimentos en los países desarrollados. Este hecho se ha relacionado, fundamentalmente, con cam-

bios en el estilo de vida occidental. La European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) ha introducido recientemente el concepto de *compounding factors* en la alergia alimentaria. Un ejemplo típico lo constituye la anafilaxia dependiente del ejercicio y los alimentos, pero existen otros factores que también podrían estar implicados, como alcohol, fármacos (AINE), cambios hormonales y virus, entre otros[107] **(figura 13)**. Desde el comienzo de las descripciones de reacciones alérgicas graves por este parásito, aparecieron los primeros casos de sospecha de intolerancia a los AINE por la ingestión concomitante de pescado y estos fármacos, que se descartó con posterioridad[8].

Los **AINE** se consideran un cofactor que en caso de sensibilización aumentan el riesgo de anafilaxia, desde las primeras descripciones de Moneret-Vautrin hasta los estudios más recientes con PTL presentes en frutas[106-108,149]. El mecanismo por el cual estos fármacos se comportan como cofactores no está claramente dilucidado, pero se han demostrado varias vías. Por un lado, se sabe que son gastroerosivos y que este efecto depende de la dosis y, por otro, tienen la capacidad de activar el mastocito, de manera que se produce un sinergismo entre el AINE y la respuesta IgE. De hecho, la propia respuesta mastocitaria tisular ayuda al incremento de paso de antígenos en la barrera intestinal de forma que se amplifica el proceso[150-151].

La edad de riesgo de estos episodios de anafilaxia por *Anisakis* (de 40 a 60 años) coincide con un mayor consumo de determi-

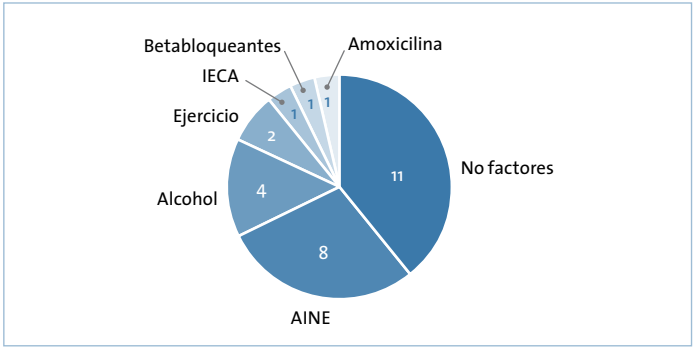


Figura 13. Cofactores en anafilaxia por *Anisakis*.

nados fármacos como **antiácidos**, **hipotensores** y **AINE**. Como se ha comentado antes en el apartado de anafilaxia, en la mitad de los casos se encontró algún cofactor y en algunos, más de uno, como puede verse en la figura 13[103].

Dentro de los hipotensores, los pacientes que se encuentran tomando betabloqueantes son susceptibles a padecer anafilaxias más graves y refractarias al tratamiento con adrenalina. En cuanto a los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA), son fármacos que actúan directamente sobre el metabolismo de la bradiquinina. Tanto los betabloqueantes como los IECA alteran la respuesta compensatoria vasoconstrictora endógena en los casos de anafilaxia que curse con hipotensión grave[152]. Un estudio multicéntrico llevado a cabo en servicios de urgencias demuestra que diversos hipo-

tensores se asocian a reacciones más graves con más órganos afectados e incremento de hospitalizaciones, independientemente de la edad, sexo, alérgeno desencadenante o enfermedad respiratoria previa[153].

En caso de coincidir con cofactores (AINE, antiácidos, hipotensores, ejercicio, etc.), habría que considerarlos capaces de incrementar la gravedad de la anafilaxia o de desencadenar anafilaxia en un paciente que previamente ha sufrido cuadros más leves.

4.4. ¿'A. simplex' vivo o muerto? La controversia está servida

Existe un consenso general según el cual en la mayoría de los casos de alergia probablemente se requiera una infestación inicial, que en muchas ocasiones ha podido pasar inadvertida[3]. Sin embargo, esta hipótesis es difícil de establecer con certeza, ya que las parasitaciones pueden pasar inadvertidas y, además, hoy en día sabemos que los antígenos –sin intervención de larvas vivas– son capaces de sensibilizar y de dar lugar a una respuesta inmunológica de tipo Th2[154].

La observación directa de algunos casos ha llevado a que ciertos autores propugnen que solamente la parasitación activa

–con larvas viables– es capaz de generar una respuesta alérgica[69]. Sin embargo, otros autores consideran que los episodios de alergia no requieren siempre una exposición al parásito vivo, sino que los antígenos remanentes en el pescado y/o las larvas no viables son capaces por sí solos de generar dicha respuesta[8,80,155,156].

Como consecuencia de la primera de las hipótesis, se ha preconizado durante las últimas décadas el consumo de pescado congelado en aras de influir en la prevención de una parasitación y, por ende, la consecuente sensibilización con *A. simplex*[3]. Sin embargo, las series de alergia y sensibilización dadas en España, tanto en el País Vasco como en Madrid, apuntan a que las medidas preventivas de parasitación no han protegido respecto al desarrollo de alergia en los últimos 20 años[78,79].

4.5. Urticaria crónica y exposición a 'A. simplex'. Sigue la controversia

Algunos autores han relacionado la urticaria crónica y el prurito crónicos con la sensibilización al parásito *A. simplex*[78,79,119,120,157]. La patogenia no está aclarada y se postula que el consumo continuado de antígenos procedentes de *A. simplex* mantiene las lesiones habonosas, lo cual entra en debate con otros autores que opinan que estos hallazgos son epifenómenos no relacionados o denotan sensibilización cruzada[8,14,80,158].

5

ALÉRGENOS

5. ALÉRGENOS

Se considera *A. simplex sensu lato*, a un complejo parasitario formado por tres especies: *A. simplex sensu estricto*, *A. pegreffi* y *A. simplex C*. Aunque existen al menos otras diez especies del género *Anisakis*, este complejo es la causa principal de parasitismo e intoxicación alimentaria de gran importancia sanitaria reconocida en España.

5.1. Alérgenos de 'Anisakis'

5.1.1. Tipos de antígenos

Hasta la actualidad se habían descrito al menos 13 proteínas alergénicas de *Anisakis* responsables de la respuesta IgE mediada[159], y algunas de ellas se utilizan in vitro en el diagnóstico por componentes. Los antígenos de los nematodos, *A. simplex*, se agrupan en tres categorías: de excreción-secreción (ES) somáticos y de superficie.

- **Antígenos de ES:** estos antígenos son producidos y liberados por las larvas vivas en el curso de la infección o bien en el medio de cultivo tras la incubación apropiada. Se producen fundamentalmente en dos estructuras: la glándula esofágica ventral y las células excretoras que rodean el tubo digestivo. Estas últimas son fuentes de enzimas histolíticas que permiten a la larva la penetración en la mucosa gastrointestinal. La liberación de estos productos en las primeras fases de la infección explica por qué los antígenos ES se encuentran entre los primeros reconocidos. Se ha demostrado, además, la capacidad que tienen estos productos de ES de desencadenar la degranulación mastocitaria en ratones sensibilizados y, por tanto, su papel en la reacción anafiláctica[160].

  Los antígenos de secreción-excreción van variando conforme van progresando las fases larvarias del parásito. En pacientes con anisakiosis los patrones de reconocimiento antigénico varían fundamentalmente dependiendo del tiempo. Un antígeno específico de 13 kDa se suele detectar entre el día 2 y 3 de la parasitación. Un cambio antigénico especialmente llamativo coincide con el periodo de transición de L3 a L4, observado habitualmente en el día 4. Sin embargo, los productos de ES liberados por L3 parecen incluir los alérgenos más importantes.

- **Antígenos somáticos (S):** Son los antígenos más abundantes en nematodos y entran en contacto con el sistema

inmunitario del hospedador tras la muerte del parásito y degradación de sus tejidos. Se obtienen por homogeneización de larvas enteras. En estudios de electroforesis en gel de poliacrilamida se observan hasta 30-40 bandas de pesos moleculares entre 13 y 150 kDa, muchas de las cuales son reconocidas por anticuerpos de ratones infectados. Gran cantidad de estos antígenos somáticos corresponden con enzimas biotinizadas (carboxilasas) que dan lugar a una intensa reactividad cruzada con otros miembros de la familia Ascaridoidea y, por tanto, a falsos positivos en el serodiagnóstico. Incluyen proteínas implicadas en el metabolismo, de las vías de glucogénesis y de la síntesis de ácidos grasos.

- **Antígenos de superficie:** La cutícula de los nematodos está compuesta principalmente por colágeno, pero en su superficie se muestran cierto número de proteínas hidrofóbicas con alto potencial antigénico. La parte más externa está recubierta de una capa rica en polisacáridos. Estos antígenos se expresan cuando ha tenido lugar la ecdisis, es decir, la transición interlarvaria (de L3 a L4), y se ha sugerido que este tipo de antígenos son menos específicos que los somáticos y los de ES. La relevancia de estos antígenos no está clara, aunque la observación de granulomas eosinofílicos rodeando a restos de cutículas del parásito sugiere su influencia en la estimulación crónica[161].

5.1.2. Fuentes alergénicas

Entre los factores que influyen en la respuesta inmunológica frente a los parásitos se encuentran la intensidad y la naturaleza de la exposición a los mismos. *A. simplex*, como fuente de exposición inmunógena, podría comportarse en el humano de diversas formas:

a) **Por vía oral** como un contaminante biológico de productos marinos (pescados y cefalópodos). Puede darse una exposición completa a antígenos de ES, somáticos y de la cutícula, como resultado de un contacto con el parásito vivo que conlleva, y, por tanto, infestación y penetración de la larva con su subsecuente degeneración y muerte larvaria. En aquellos casos de expulsión rápida de la larva intacta se presupone una exposición predominante frente a antígenos de ES. Finalmente, cuando la exposición tiene lugar con larvas ya muertas contenidas en alimentos, los antígenos más involucrados serían aquellos presentes tanto en la cutícula como los somáticos, mientras que los antígenos de ES solo estarían presentes en cantidades mínimas.

b) **Otras vías de exposición.** Se han de considerar tanto la vía inhalatoria como la de contacto, fundamentalmente en trabajadores del sector pesquero, industrias procesadoras de pescado, restauradores y pescaderos. En estos casos los antígenos más implicados serían los somáticos y de superficie, liberados al manipular los productos de la pesca.

Aunque se produzca la muerte de las larvas por congelación, se ha comprobado que la permeabilidad de la cutícula puede seguir permitiendo la liberación al medio de alérgenos cuando las larvas congeladas son sometidas a tratamientos culinarios posteriores[139]. Por lo tanto, diversos autores consideran que consumir pescado adecuadamente cocinado o congelado pero contaminado con alérgenos de *Anisakis* representa un riesgo para la salud en los pacientes alérgicos[137,143,155,162,163].

5.1.3. Descripción antigénica

En la tabla 7 se pueden ver los alérgenos aislados hasta la actualidad[80,159-175].

- **Ani s 1.** Es un alérgeno mayoritario de excreción-secreción, de 24 kDa, presente en la glándula excretora, frente al que se detecta IgE específica en el 86% de pacientes con sospecha de alergia al parásito y de anisakiosis intestinal. Es muy resistente a la ebullición según han demostrado tanto autores japoneses como españoles (30 y 10 minutos, respectivamente). El antígeno recombinante rAni s 1 está disponible comercialmente para diagnóstico multiplex por componentes *(microarray)*.

  Coincidiendo con la denominación de esta proteína de 24 kDa, otra proteína de 21 kDa con una gran homología con troponinas de nematodos también fue denominada como Ani s 1, aunque era un alérgeno minoritario, solo reconocido por el 20% de los pacientes.

- **Ani s 2.** La paramiosina de *A. simplex* es otro alérgeno mayoritario, en este caso somático, de un peso molecular de 97 kDa, presente en el cuerpo de la larva. Tiene una estructura similar a la de los antígenos presentes en ácaros *(Blomia tropicalis)* Blo t 11.

- **Ani s 3.** Tropomiosina (41 kDa) termoestable, con una gran similitud, tanto estructural como inmunoquímica, con la tropomiosina de otros invertebrados como gamba (Pen a 1), Dermatophagoides (Der p 10 y Der f 10) cucaracha (Per a 7) y caracoles. Otros hallazgos interesantes son la capacidad de unión de estos alérgenos a células T HLA DRBI*0404.

- **Ani s 4.** Alérgeno minoritario de 9 kDa, inhibidor de las serina proteasas resistente al calor (ebullición durante 30 minutos) y la digestión por pepsina, presente entre los antígenos liberados por la larva y, por tanto, de excreción-secreción y también de superficie. Por sus características, podría tener una gran relevancia clínica y explicar la sintomatología referida por algunos pacientes tras la ingestión de pescado bien cocinado y enlatado.

- **Ani s 5.** Aproximadamente, entre el 25% y el 40% de los pacientes alérgicos a *Anisakis*, especialmente aquellos que presentan reacciones alérgicas tras el consumo de pescado correctamente cocinado o incluso en conserva (enlatado) presentan IgE específica frente al antígeno Ani s 5; más aún, la especificidad de su uso como test diagnóstico es superior

al 95%. La estructura tridimensional de este antígeno se ha descrito en 2014 y se asemeja a la de la Calmodulina, de modo que está compuesta por seis hélices alfa (H). Varios miembros de esta familia de proteínas se han identificado en nematodos parásitos tanto de plantas como de animales. No se han encontrado homólogos de estas proteínas fuera de los nematodos, lo cual hace suponer que intervengan en controlar el daño ocasionado por este tipo de parásitos. Esta proteína une magnesio en lugar de calcio, y su estructura tan parecida a la calmodulina sugiere alguna posible función en relación con las proteínas SXP/RAL-2.

- **Ani s 6.** Es un antígeno minoritario de ES inhibidor de las cisteína proteasas, localizado tanto en la glándula excretora como en la cutícula. Inhibe la α-quimotripsina, pero no la tripsina, de forma dosis-dependiente. Junto con Ani s 4, son los primeros antígenos de nematodos descritos en humanos como inhibidores de serina y cisteína proteasas, y podrían explicar las reacciones alérgicas inducidas tras la ingestión de pescado bien cocinado.

- **Ani s 7.** Es una glicoproteína de ES y equivale al antígeno que reacciona con el anticuerpo monoclonal UA3. Parece relacionarse con la infectividad y se reconoce de forma mayoritaria por los pacientes parasitados en cifras que rondan el 100%.

- **Ani s 8.** Es un alérgeno termoestable de 150 aminoácidos presente en los productos de ES que presenta homología

con la familia SXP/RAL-2 de proteínas, incluyendo Ani s 5. Se ha detectado sensibilización a este alérgeno en el 25% de los pacientes alérgicos estudiados en Japón. Estudios de ELISA *(Enzime linked immuno sorbent assay)* de inhibición muestran reactividad cruzada entre Ani s 8 y Ani s 5.

- **Ani s 9.** Es un alérgeno termoestable presente en los productos de ES que pertenece a la familia SXP/RAL-2 de proteínas y presenta una identidad en su secuencia de aminoácidos del 60% con el alérgeno As-14, procedente de Áscaris suum. Aproximadamente, el 13,8% de los pacientes alérgicos a *Anisakis* son positivos al antígeno recombinante rAni s 9 y al natural Ani s 9 por inmunodetección.

- **Ani s 10.** Este alérgeno fue detectado por quimioluminiscencia de una biblioteca de expresión de cADN construido a partir de larvas L3 de *A. simplex*. Presenta repeticiones casi idénticas de 29 aminoácidos cada una. Es reconocida por el 39% de los pacientes alérgicos a *Anisakis*[166] (proteína de 212 aminoácidos con peso molecular de 22 kDa. Ani s 10 no presenta homología con otras proteínas descritas previamente y su secuencia se compone de 7 repeticiones de 29 aminoácidos. Se ha comprobado que reaccionan el 39% de los pacientes alérgicos frente a Anis10 mediante inmunoblotting.

- **Ani s 11.** Es un alérgeno reconocido por la mitad de los pacientes alérgicos aproximadamente y se caracteriza por

presentar seis secuencias repetidas con identidad del 45% con Anis10. También es reconocida por casi el 50% de los pacientes alérgicos a *Anisakis*.

- **Ani s 12.** Es un alérgeno reconocido aproximadamente por la mitad de los pacientes alérgicos y tiene, como Anis7, varias secuencias repetidas. Posee una estructura única que se compone de cinco repeticiones en tándem, similar a la secuencia de Ani s 7. Sus funciones aún son desconocidas. Este tipo de estructuras repetidas descritas en los últimos alérgenos se supone que influyen en la unión con anticuerpos IgE.

- **Ani s 13.** Las hemoglobinas de los nematodos difieren mucho de las de los vertebrados: solo muestran el 10-15% de homología. Las hemoglobinas de los nematodos son una de las estrategias más interesantes que emplean estos parásitos en su supervivencia, dado que presentan una gran afinidad muy incrementada por el oxígeno respecto a la de sus hospedadores. La hemoglobina está muy presente en las larvas L3 de anisákidos, y se ha descrito como antígeno capaz de unir IgE en modelos murinos. La hemoglobina se encuentra en altas concentraciones en el lumen intestinal, alrededor de la musculatura y bajo la cutícula de estas larvas, por ello, se puede considerar un antígeno de ES que se expresa en el aparato digestivo y desde allí pasa, vía glándulas excretoras, al medio. El grupo de Nataly Nieuwenhuizen[46] generó un anticuerpo monoclonal frente a la hemo-

globina de *Anisakis* pegreffii y confirmó que el empleo de este anticuerpo confiere protección frente a la infestación activa por *Nippostrongylus brasiliens*, reduciendo el crecimiento del parásito y aumentando la respuesta Th2. Sin embargo, no logró detectar anticuerpos IgE ni IgG frente a este antígeno en trabajadores expuestos por vía inhalatoria (pescadores), lo que sugiere que podría ser un marcador de infestación por el parásito vivo. En este sentido, posteriormente, autores españoles han demostrado que 28 de 44 casos sensibilizados a *Anisakis* presentan unión a esta hemoglobina mediante un método de ELISA[164].

La purificación y caracterización de alérgenos puede facilitar el diseño tanto de métodos diagnósticos fiables como de estrategias de tratamiento a nivel inmune.

El consumo de merluza cocinada ha originado la mayor proporción de casos de alergia en el norte de España; por ello, diversos autores indican que podría atribuirse a la termoestabilidad de algunos alérgenos del parásito. En este sentido, Vidacek et al. detectaron en el músculo del pescado el alérgeno Ani s 4 después de un tratamiento con calor, y sugieren que dicho alérgeno es liberado por la larva en el tejido circundante y que, aunque la propia larva no esté presente, conserva su alergenicidad[156]. Asimismo, la congelación del pescado en condiciones comerciales y periodos superiores a un año no afecta al alérgeno Ani s 4[156]. Estos hechos son de gran importancia para el consumidor, ya que las medidas profilácticas recomenda-

das por la Unión Europea para inactivar la larva, tales como la congelación y la cocción adecuadas, serían insuficientes para protegerse de las posibles respuestas de hipersensibilidad mediada por la IgE. Otro ejemplo lo constituyen las hemoglobinas de los parásitos que pueden representar una diana muy interesante para las vacunas frente a los mismos y concretamente en nuestro caso *Anisakis*.

Actualmente, se han descrito 13 alérgenos de *Anisakis*. La purificación y caracterización de alérgenos facilita el diseño tanto de métodos diagnósticos fiables como de estrategias de tratamiento. La termoestabilidad de algunos alérgenos del parásito explica patologías alérgicas producidas con larvas muertas. Algunos antígenos concretos, como las hemoglobinas, apuntan posibilidades terapéuticas.

Actualmente, se han descrito 13 alérgenos de *Anisakis*. La purificación y caracterización de alérgenos facilita el diseño tanto de métodos diagnósticos fiables como de estrategias de tratamiento. La termoestabilidad de algunos alérgenos del parásito explica patologías alérgicas producidas con larvas muertas. Algunos antígenos concretos, como las hemoglobinas, apuntan posibilidades terapéuticas.

Tabla 7. Alérgenos de *Anisakis*

Nombre	Peso molecular kDa	Localización	Tipo de alérgeno	Referencias	Reactividad IgE (%)
Ani s 1	21-24	Excreción-secreción	Homología con el inhibidor de serina proteasas	Moneo, Shikamura Caballero, Gómez-Aguado Arrieta, Rodríguez-Pérez	85
Ani s 2	97	Somático	Paramiosina	Pérez-Pérez, Guarnieri	88
Ani s 3	41	Somático	Tropomiosina	Asturias, Guarnieri	4
Ani s 4	9	Excreción-secreción	Inhibidor de cisteína proteasas	Rodriguez Mahíllo	27
Ani s 5	15	Excreción-secreción	SXP/RAL-proteína	Kobayashi	25-49
Ani s 6	-	Excreción-secreción	Inhibidor de serina proteasas	Kobayashi	18

Ani s 7	139-154	Excreción-secreción	Glicoproteína	Lorenzo, Rodríguez E	83-100
Ani s 8	15	Excreción-secreción	SXP/RAL-proteína	Kobayashi	25
Ani s 9	14	Excreción-secreción	SXP/RAL-proteína	Rodríguez-Pérez	13
Ani s 10	21	Somático	Función desconocida	Caballero	39
Ani s 11	27	Somático	Función desconocida	Kobayashi	47
Ani s 12	31	Desconocido	Función desconocida	Kobayashi	57
Ani s 13	37	Excreción-secreción Somático	Hemoglobina	Nieuwenhuizen González-Fernández	Descono-cido

5.2. Reactividad cruzada

Los anticuerpos de tipo IgE, al igual que en otras infecciones por helmintos, ocasionan menos problemas de reactividad cruzada que los anticuerpos IgG e IgM. Este hecho justifica que para diagnosticar parasitaciones se utilicen los ensayos con IgE. Sin embargo, las pruebas basadas en la determinación de IgE frente a antígenos de *Anisakis* pueden arrojar resultados falsos positivos por reactividad cruzada, especialmente cuando nos referimos a niveles bajos de IgE frente a antígenos completos[80].

Es relativamente frecuente detectar valores positivos de IgE frente a *A. simplex* en pacientes que en realidad no han presentado alergia en relación con el consumo de pescado. En estos casos, la determinación de IgE no solo no resulta útil, sino que además se puede considerar un factor de confusión hasta en un 25% de controles sanos adultos. Las posibles explicaciones a este fenómeno son múltiples. Las más estudiadas son las reactividades cruzadas con otros nematodos, insectos y crustáceos. Se han detectado anticuerpos IgE frente a carboxilasas de *Anisakis* que reaccionan de forma cruzada con Áscaris, Toxocara e Hysterothylacium, dado que estas enzimas están muy conservadas en la evolución. Algunos denominados panalérgenos, como la tropomiosina de los invertebrados, explicaría la reactividad cruzada en relación con crustáceos, insectos y ácaros. Son carbohidratos (CCD) con los cuales recientemente se ha detectado IgE específica frente al antígeno Ani s 9 de

Anisakis que reacciona de forma cruzada con CCD presentes en Vesv1 de veneno de Vespula spp.[176]. También ha sido motivo de estudio la reactividad cruzada relacionada con glicanos presentes en glicoproteínas de otros nematodos o biotinil-enzimas que estimulan la producción de IgE en algunos pacientes. Antígenos deglicosilados denominados UA3R mejoran la especificidad del diagnóstico de alergia y parasitación[177]. Existe una revisión muy reciente de posibles antígenos de *Anisakis* que explora de manera exhaustiva dicha reactividad y cuyo resumen se expresa en la **tabla 8** siguiente. Este estudio concluye que los candidatos más interesantes son al menos 16 proteínas que se encuentran en otros alérgenos homólogos procedentes de diversos insectos que incluyen entre otros ácaros, quironómidos, cucarachas, mosquitos, piojos, nematodos y también alimentos de la familia de los crustáceos[178].

El diagnóstico por componentes o con alérgenos que sean tratados de modo que no se produzca reactividad cruzada está mejorando los diagnósticos tanto de alergia como de parasitación y resolviendo algunas dudas sobre el origen de la reactividad cruzada. Se ha aplicado la tecnología de Fago display para identificar nuevos alérgenos de *Anisakis*[179]. Se ha empleado Ani s 1 recombinante y se ha demostrado que es inmunoquímicamente equivalente al natural; el 86,8% de los pacientes alérgicos reaccionan con él[180]. Con esta tecnología de antígenos recombinantes se han realizado con rAni s 1 y rAnis3 pruebas cutáneas, test de activación de basófilos y determinación de

Tabla 8. Alérgenos de reactividad cruzada de *Anisakis*

Proteína	PM (kDa)	Familia de alérgenos	Alérgenos homólogos
Apolipoforina	353,6	AF092	Cucaracha (Blagvitelogenina) Ácaros (Derp14, Derf14, Eurm14)
Proteína tipo calponina	256,1	AF164	Ascaris (Asc s calponina)
Anhidrasa carbónica	233,7	AF139	Piojo (Ped h carbonic anhydrase)
Miosina	218,6	AF007	Cucaracha (Blag8) Quironómido (Fortmiosina) Gamba (Litv3)
Alfa-amilasa	84,4	AF003	Acaros (Blot4, Derp4, Eurm4, Tyrp4) Mosquito (Aeda4) Quironómido (Culn8)
Proteína heat shock 70	70,5	AF002	Ácaros (DerfHSP, Blot HSP) Cucaracha (BlagHSP) Quironómido (CulnHSP) Mosca (Simvi70kDa)
Miofilina	21,2	AF164	Tenia (Ech g miofilina)
Disulfidoiso-merasa	55,6	AF023	Gamba (LitvTRX) Polilla (Ploi2)

Tabla 8. Alérgenos de reactividad cruzada de *Anisakis* *(continuación)*

Proteína	PM (kDa)	Familia de alérgenos	Alérgenos homólogos
Tubulina alfa-beta	55,6/51,3	AF025	Ácaros (Lepdalfatubulina, Tyrpalfatubulina)
Enolasa	47,7	AF031	Cucaracha (Blagenolasa)
Arginina cinasa	41,8	AF049	Ácaros (Derfp20) Cucaracha (Blag9, Pera9) Gamba (liv2, Crac2,Mete2,Penm2) Cangrejo (Chio2, Scys2) Langosta (Homg2) Polilla (Ploi1)
Endoquitinasa	40	AF077	Ácaros (Derf15, Derf18, Derp15, Derp18, Blot15)
Hemoglobina	39,5	AF009	Quironómido (Chik1, Poln1, Chit1-9)
Fructosa-1, 6-bifosfatoal-dolasa 1	39,5	-	Quironómido (FortFPA)
Proteína ribosómica 60S	34,9	AF070	Quironómido (Culn1)
Trisenofosfa-toisomerasa	26,3	AF032	Quironómido (FortTPI) Cucaracha (BlagTPI) Gamba (Crac8) Cangrejo de río (Arcs8)

Tabla 8. Alérgenos de reactividad cruzada de *Anisakis* *(continuación)*

Proteína	PM (kDa)	Familia de alérgenos	Alérgenos homólogos
Glutation-S-transferasa	23,6	AF010	Cucaracha (Blag5, Pera5) Ácaros (Acas8, Aleo8, Blot8, Derf8, Derp8, Glyd8, Lepd8, Suim8, Tyrp8, SarsGST) Nematodos (AscsGST, BrumGST, LoaloGST, OncvGST, SchjGST, WucbaGST)

IgE específica y se ha llegado a la conclusión de que Ani s 1 es el antígeno mayoritario y la sensibilización a Ani s 3 no es relevante en reactividad cruzada en pacientes procedentes del País Vasco[77]. En un estudio de prevalencia de IgE específica frente a rAni s 1, rAni s 5, rAni s 9 y rAni s 10 en población procedente de Madrid y otra similar procedente de Italia, concluyeron que las clases bajas de IgE (clases 1 y 2) presentan alta probabilidad de sensibilización sin manifestaciones clínicas, mientras que las clases 4 en adelante se asocian a una alta probabilidad de alergia. El alérgeno más frecuentemente detectado en la población española es Ani s 1 (95%). Mientras que todos los pacientes españoles fueron capaces de detectar al menos un alérgeno, solo ocurrió lo mismo en el 76% de los pacientes italianos. Los

españoles presentaban más patología alérgica mientras que los italianos presentaban fundamentalmente síntomas digestivos[162,181]. **Estos datos concuerdan con las descripciones de anafilaxia en nuestro país (tabla 6).**

6

DIAGNÓSTICO

6. DIAGNÓSTICO

6.1. Parasitación

6.1.1. Endoscopia

La parasitación por larvas de *Anisakis* es peculiar en varios aspectos con respecto a otras:

1. Entre el 90% y el 95% de los casos descritos están ocasionados por una sola larva.
2. Lo habitual es que en el plazo de tres semanas la larva se expulse por el tracto digestivo o incluso migre a localizaciones ectópicas.
3. El humano no es un hospedador adecuado para el parásito.

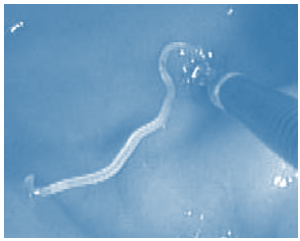
Estas peculiaridades hacen que, a diferencia de lo que ocurre con otras parasitaciones digestivas, los diagnósticos **coprológicos** no sean útiles. La sospecha clínica viene dada por los antecedentes

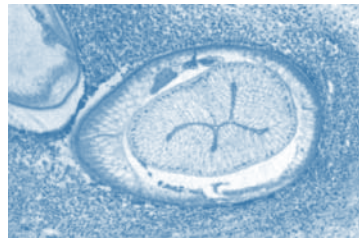
alimentarios del enfermo que conllevan consumo de pescado y/o cefalópodos crudos o sometidos a tratamientos culinarios que no garantizan la muerte del parásito. El diagnóstico de certeza se establece de acuerdo con la clínica y la endoscopia, que es el mejor método de confirmación. De hecho, la **endoscopia** es la prueba de rutina más habitualmente empleada en el diagnóstico cuando el parásito se encuentra en lugares accesibles.

El **estudio endoscópico** es el método de elección en las formas gástricas, ya que, además del diagnóstico, permite el tratamiento mediante la extracción de la larva. Si la endoscopia se lleva a cabo en las primeras horas del inicio de los síntomas, podemos observar la larva viva penetrando en la mucosa. Un examen endoscópico del estómago, duodeno o colon suele permitir la visualización de las larvas, lo que confirma el diagnóstico y permite, además, la extracción de las mismas a través del propio endoscopio **(figura 14)**. De este modo, se realiza el diagnóstico, que confirma la parasitación y, al mismo tiempo, el tratamiento precoz.

Los estudios endoscópicos revelan que las larvas y lesiones asociadas suelen encontrarse distribuidas predominantemente en el estómago. Con frecuencia, se pueden ver también pequeñas áreas hemorrágicas o erosiones que corresponden al sitio de penetración de la larva L3[76].

Cuando la larva no se aprecia por endoscopia, se recomienda administrar una solución de índigo carmín al 0,1% sobre la zona





La endoscopia es diagnóstica y terapéutica en fases iniciales de anisakiosis gástrica

La toma de biopsia suele ser diagnóstica en etapas avanzadas de la gástrica y en la intestinal

Figura 14. Imagen de endoscopia extrayendo la larva e imagen de anatomía patológica de una sección de L3 de *Anisakis*.

lesionada con el fin de aumentar el contraste. Si el diagnóstico se realiza poco después del inicio de los síntomas, las larvas se observan penetrando la pared[76].

6.1.2. Diagnóstico anatomopatológico

En etapas más avanzadas de la anisakiosis gástrica (en caso de que las larvas hayan penetrado profundamente en la pared gastrointestinal) y casi siempre en la anisakiosis intestinal, es necesario el estudio anatomopatológico del material de biopsia o de los cortes histológicos del fragmento afecto para la identificación. En los casos más evolucionados, generalmente

se encuentra una lesión tipo granuloma con vestigios de la larva en su interior. Las técnicas endoscópicas también pueden emplearse en los casos de otras localizaciones accesibles al fibroscopio, como el duodeno o el colon[76,80].

En casos de abdomen agudo, con resecciones intestinales, los anatomopatólogos deberían tener en cuenta la sospecha de parasitación y buscar restos del parásito. Lo mismo en las gastroenteritis eosinofílicas a las que se les realice anatomía patológica: se deben buscar lesiones granulomatosas con restos de cutículas de larvas en su interior.

6.1.3. Radiología

El manejo de los pacientes con anisakiasis depende de la localización de las lesiones. En la anisakiasis gástrica aguda, la ecografía endoscópica muestra un engrosamiento hipodenso de la pared superior a 10 mm, y se distinguen cinco capas en la misma, y en la tercera se observa una disminución de la ecogenicidad. Este edema submucoso gástrico muestra un engrosamiento hipodenso que afecta más frecuentemente al cuerpo/antro gástrico. Estos hallazgos son los que se asocian más claramente a la parasitación gástrica.

Otras técnicas alternativas descritas incluyen estudios radiológicos baritados, la ecografía abdominal y la ecografía transendoscópica, entre otros, cuyos hallazgos pueden apoyar la sospecha diagnóstica. Suelen emplearse en los casos de afectación

intestinal y extraintestinal, y suelen aportar signos indirectos de parasitación.

Las imágenes radiológicas de la anisakiasis intestinal, con estudios de bario, muestran imágenes debidas al importante edema de las paredes intestinales, con engrosamiento irregular y rigidez de la pared (hasta en un 85%), estrechamiento de la luz, imágenes en «huella de dedo» y engrosamiento de los pliegues de Kerckring, y, a veces, pueden visualizarse defectos de repleción lineales cortos, debidos a la propia larva, lo que es patognomónico. El resto de los hallazgos radiológicos son inespecíficos, por lo que se debe hacer un diagnóstico diferencial con otras enfermedades que provocan engrosamiento de la pared intestinal, tales como enteritis eosinofílica, enfermedad de Crohn, isquemia, tuberculosis, neoplasias, invaginación, ileítis y diverticulitis, por lo que una anamnesis adecuada del paciente es muy importante.

Las imágenes ecográficas tampoco son específicas, se objetiva un engrosamiento de la pared del intestino delgado, igual o superior a 4 mm (de 5-15 mm), engrosamiento de pliegues, dilatación de asas proximales al engrosamiento con disminución del peristaltismo, líquido libre próximo al tramo afectado y estenosis de la luz **(figura 15)**.

La administración de bario oral en principio no es deseable en pacientes con un íleo, que se desarrolla con gran frecuencia en la anisakiasis intestinal. En esta situación, la ecografía es el mé-

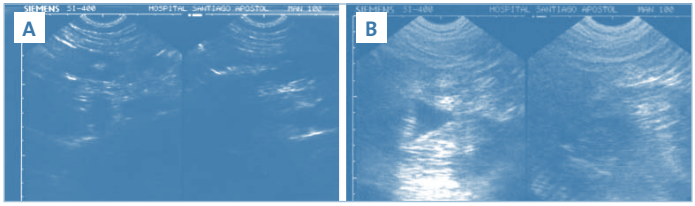


Figura 15. Imágenes de ecografía de *a)* perforación con engrosamiento de íleon y líquido libre en fondo de saco peritoneal y *b)* engrosamiento de pared gástrica y líquido libre peritoneal.

todo diagnóstico alternativo, con gran sensibilidad para la detección de inflamación en las asas intestinales[76,80] **(figura 16)**.

En un estudio retrospectivo de 12 casos de anisakidosis acontecidos en Vitoria (País Vasco) en los últimos años, se constató que la mayoría de los pacientes habían cursado con clínica gastrointestinal a las pocas horas de la ingesta de pescado crudo, pero sin síntomas alérgicos sistémicos. Además, en los estudios radiológicos se había descrito una distensión intestinal generalizada, engrosamiento de largos segmentos intestinales y ascitis difusa. Estos hallazgos habían resultado inesperados para una parasitación intestinal, ya que esperaban encontrar una afectación más limitada, a un corto segmento intestinal (debido al daño resultante de la invasión directa de la larva en la pared). Esta afectación difusa radiológica resultó más sugestiva de un cuadro con componente fisiopatológico de reacción alérgica limitada exclusivamente al aparato digestivo como órgano de choque[76,80,182].

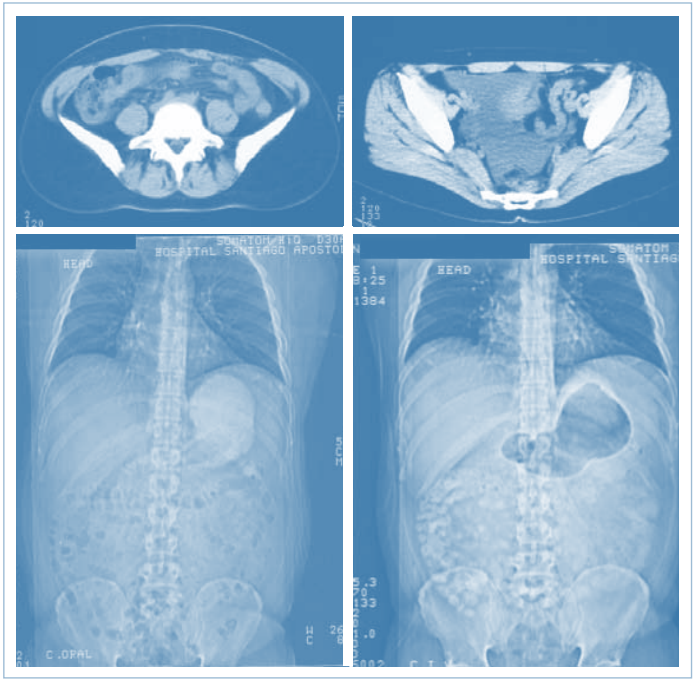


Figura 16. Ileítis granulomatosa perforada.

En los últimos años se han descrito lesiones, tanto en tomografía computarizada (TC) como un caso descrito en tomografía computarizada por emisión de positrones (PET-TC), que sugieren parasitación activa por anisákidos[183,184] **(figuras 17 y 18)**.

Estos casos en que aparecen clínicamente como oclusiones intestinales, abdomen agudo y/o seudotumores se caracterizan

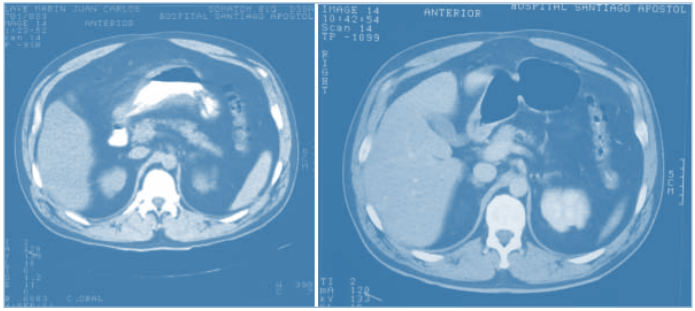


Figura 17. Lignitis plástica e imagen de tumor evanescente.

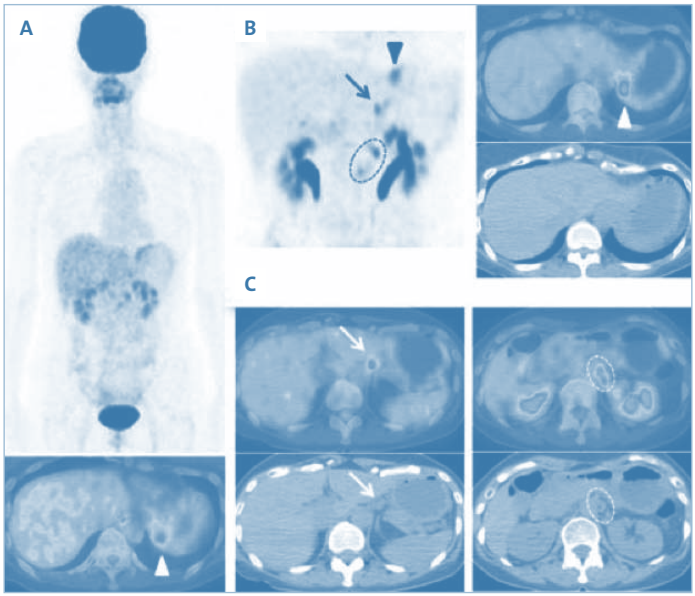


Figura 18. Imágenes de PET-TC.

por su resolución espontánea y, por lo tanto, son evanescentes y se puede confirmar que desaparecen en unos días. En estos casos, el antecedente de ingestión de pescado en el intervalo antes mencionado y la confirmación mediante pruebas serológicas del perfil de IgE total y específica completarían el diagnóstico de sospecha.

6.1.4. Serología

Las pruebas serológicas para el diagnóstico incluyen varias técnicas basadas en la respuesta inmunológica que inducen los parásitos en los humanos. El sistema inmunitario humano, probablemente porque no está totalmente adaptado al parásito y viceversa, cuando entra en contacto con los antígenos del parásito produce una respuesta humoral, tal y como se ha comentado previamente, lo que genera varios isotipos de anticuerpos (IgG, IgM e IgE). En humanos, se han detectado niveles aumentados de IgE específica frente al parásito durante los primeros días que siguen a una reinfestación y estos niveles se pueden mantener altos durante meses. También los niveles de IgE total policlonal (no solo la específica frente al parásito) se elevan en las parasitaciones agudas y van descendiendo de forma paulatina. El día de la reacción, en la AGA ya está presente la IgE específica, que va a aumentar su valor, junto con la IgE total, al mes de la reacción, para descender paulatinamente en los meses posteriores. Una estimación aproximada es el descenso al 50% de los niveles iniciales, en 6 meses con una curva en forma de asíntota en los siguientes años[76,80].

Todos estos métodos emplean antígenos completos o parcialmente purificados, que demuestran una alta reactividad cruzada con antígenos procedentes de otros parásitos, insectos y crustáceos. Este hecho es especialmente notorio para anticuerpos IgG o IgM específicos, que son frecuentemente inducidos por carbohidratos comunes presentes en glicoproteínas parasitarias.

Las técnicas inmunológicas no se consideran métodos rutinarios para el diagnóstico de parasitación por nematodos. Son útiles, sobre todo, para evaluar el perfil serológico a lo largo del tiempo, con el fin de apoyar un diagnóstico presuntivo, o bien si existe la sospecha de localizaciones ectópicas. Su principal inconveniente es la frecuente reactividad cruzada entre nematodos. En este sentido, con respecto a *Anisakis*, fueron los autores japoneses los que desarrollaron la determinación de IgE específica con el objetivo de mejorar la especificidad del diagnóstico serológico con respecto a otros isotipos de inmunoglobulinas (IgG o IgM)[76,80].

Los estudios endoscópicos revelan que las larvas y lesiones asociadas suelen encontrarse distribuidas predominantemente en el estómago.

Además de la endoscopia, que sirve tanto para el diagnóstico como para el tratamiento de la anisakidosis, existen otros métodos, como la serología IgE, la toma de biopsia (histología) y los métodos radiológicos, que pueden confirmar un diagnóstico de sospecha clínica.

6.2. Diagnóstico de alergia a 'Anisakis'

Como en todo estudio alergológico se debe comenzar por una historia clínica que sea compatible. En este caso supone una reacción de tipo alérgico en el contexto de haber comido pescado en las 4-6 horas previas a la reacción. El diagnóstico de alergia al *A. simplex* ha generado controversia, puesto que se carece de una verdadera prueba confirmatoria. En la mayoría de los trabajos realizados hasta la fecha, los pacientes son diagnosticados de alergia a este parásito basándose en los siguientes criterios:

a) Historia clínica compatible (urticaria/angioedema o anafilaxia tras la ingestión de pescado); *b)* detección de anticuerpos IgE específicos frente al parásito mediante pruebas in vivo (pruebas cutáneas) o in vitro (detección de IgE específica en suero), y *c)* descartar la implicación de alergia a las proteínas del pescado u otros factores concomitantes (AINE, otros alimentos)[8,76,80].

Las prácticas culinarias de más riesgo son las que permiten la supervivencia del parásito. Entre estas se encuentran, además de los platos exóticos elaborados con pescado crudo, otros platos más tradicionales como los boquerones en vinagre, la región craneal-abdominal (cogote) de pescados cocinados a la parrilla o a la plancha, los pescados rebozados y los pescados al microondas si no se siguen las normas recomendadas para que la larva no sea viable[35,76,80,88].

6.2.1. Pruebas cutáneas

En los primeros casos descritos de alergia se realizaron pruebas cutáneas con extracto completo de *Anisakis* realizado de forma artesanal a diferentes concentraciones. Con posterioridad, diversas casas comerciales han puesto en el mercado extractos de *Anisakis* para la prueba de prick o intraepidérmica a la concentración de 1 mg/ml. Cuando ha pasado un periodo de dos a tres semanas tras la reacción, se pueden realizar las pruebas cutáneas. Para confirmar el diagnóstico, las pruebas deberían resultar positivas para el extracto de *Anisakis* y negativas para los pescados u otros alimentos o medicamentos ingeridos de forma concomitante. Inicialmente, resultan muy útiles por su gran valor predictivo negativo y su gran sensibilidad, lo que apoya el diagnóstico de sospecha de una historia clínica compatible y descarta otras posibles causas. Una prueba cutánea positiva, sin embargo, solo demuestra un contacto previo con la larva, y probablemente se mantenga positiva durante largos periodos de tiempo[76,80].

Dado que en los últimos años este parásito se ha introducido en las baterías de pruebas de alergia a alimentos o estudios de urticaria/anafilaxia, es relativamente frecuente encontrar que aparecen reacciones tardías con induración al cabo de 12 a 24 horas tras la realización del prick. Este hallazgo no parece correlacionarse con los cuadros IgE mediados, y no ha sido explicado, pero se supone que tendría que ver con un reconocimiento antigénico de tipo celular (similar a la prueba de Cassoni).

6.2.2. Determinación de IgE específica

La cuantificación de la IgE específica sérica se suele realizar mediante una técnica de ELISA, estandarizada por algunas casas comerciales (Phadia-Thermofisher, Immulyte, etc). Para la mayoría de alérgenos, valores superiores a 0,35 kU/l se consideran positivos, pero en el diagnóstico de alergia a *Anisakis* es frecuente encontrar valores positivos bajos sin relevancia clínica. Esto quiere decir que habitualmente solo se consideran positivos los valores superiores a 0,7 (clase 2) o, incluso, 3,5 kU/l (clase 3). Si tenemos en cuenta que un extracto de Anisakis es una mezcla compleja de moléculas, se ha comprobado que algunos pacientes pueden presentar inespecíficamente IgE frente a algunas de ellas (probablemente por reactividad cruzada), de modo que podemos obtener valores bajos de IgE específica frente al parásito[8,76,80,181]. Estos pacientes pueden ser alérgicos a insectos o mariscos con algunas proteínas comunes con el *Anisakis*, lo que puede dar lugar a falsos positivos. Por sí sola, la IgE específica demuestra, como

la prueba cutánea, solo un contacto previo sin poder situarlo en el tiempo.

En este sentido, la determinación de IgE específica puede ser también un importante factor de confusión para el diagnóstico, ya que en nuestro país es detectable en un porcentaje alto de población adulta sana, del 10% al 25% de controles normales, y en más del 30% de los sujetos con urticaria o angioedema de cualquier etiología.

En un estudio realizado en una serie de pacientes adultos de Vitoria con anafilaxia, frente a un grupo control de la misma procedencia, se demostró que las mejores variables predictoras de anafilaxia fueron la edad y la IgE específica. Utilizando la edad, considerada variable cuantitativa, y la IgE específica, considerada una variable ordinal (desde clase 0 hasta clase 6), y siguiendo un modelo de regresión logística, se elaboró un modelo matemático. Este modelo calcula la probabilidad de que un paciente se convierta en un caso: en esta fórmula deben introducirse dos valores: la edad del paciente y la clase de IgE específica que presenta[103].

$$p[caso] = \frac{e^{-4{,}708+0{,}037[\text{EDAD}]+0{,}803[\text{CLASE}]}}{1+e^{-4{,}708+0{,}037[\text{EDAD}]+0{,}803[\text{CLASE}]}}$$

En una publicación reciente que compara casos de Madrid con casos italianos, también llegan a la conclusión de que los valores bajos de IgE (clase 1 y 2) no son específicos de alergia comparados con niveles de clase 4, 5 y 6[181].

Como todo estudio de alergia, debe empezarse por una historia clínica compatible. La confirmación de pruebas cutáneas positivas y/o IgE específica en niveles superiores a clase 2 apoyan el diagnóstico de sospecha.

Se han descrito otras técnicas de provocación y técnicas in vitro (inmunobloting, test de activación de basófilos [TAB], antígenos recombinantes) que ayudan a diferenciar la verdadera alergia de la sensibilización subclínica.

6.2.3. Provocación oral con larvas liofilizadas de 'A. simplex'

En un estudio realizado con pacientes procedentes de Madrid con anisakiosis gastroalérgica, ninguno de ellos presentó reacción con larvas no infectantes (muertas por congelación). Los mismos resultados se obtuvieron con un extracto de proteínas excretoras-secretoras. En la observación a largo plazo, además, ninguno de estos pacientes diagnosticados de AGA ha sufrido nuevas reacciones con una dieta adecuada que consiste en la congelación previa de cualquier pescado ingerido. Puede ser útil, en teoría, en los pacientes en los que se pretenda descartar una verdadera alergia al *A. simplex*[76,99].

6.2.4. Pruebas de exposición conjuntival y bronquial

Para las pruebas conjuntivales, se recomiendan las normas de la Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica, y se consideran positivos con la concentración de 1 mg/ml. Un estudio llevado a cabo en dos grupos de pacientes, con y sin historia de anisakiosis gastroalérgica y exposición conjuntival a 1 mg/ml, demostró una sensibilidad del 75%, una especificidad del 68,7% y un valor predictivo positivo del 67,7% para esta enfermedad en concreto[111].

Las pruebas de provocación bronquial se han realizado con extractos acuosos, siguiendo el método de titulación a punto final para determinar la concentración inicial. Se obtuvieron caídas significativas del volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV_1) a las concentraciones de 0,1 mg/ml, 0,5 mg/ml y 1 mg/ml, dependiendo de los casos: algunos inmediatos y dos de ellos de tipo dual (inmediato y tardío)[112,185].

6.2.5. Prueba del frotamiento ('rubbing') y pruebas epicutáneas en parche

Solamente hay un caso descrito de prueba de frotamiento con 10 mg de extracto de *A. simplex* durante 15 segundos, que presentó reacción positiva tanto inmediata como tardía. Las pruebas de parche resultaron negativas, pero el paciente dio positivo frente a *A. simplex* en la prueba de prick y en el IgE. Montoro et al. ya describen casos de pruebas epicutáneas con punción

(*prick*) con positividades tardías, aunque no los relacionan con dermatitis de contacto[186]. Estos hallazgos hacen pensar que las pruebas cutáneas (tanto las epicutáneas con punción como la intradermorreacción) con lectura tardía pueden ser de utilidad para el estudio de dermatitis alérgicas de contacto o dermatitis retardadas, como ya se ha descrito con medicamentos, por ejemplo[76,186].

6.2.6. Otras pruebas in vitro

Además de la determinación de IgE específica, se pueden realizar otros análisis más precisos de reconocimiento de antígenos, que no están disponibles en todos los servicios de alergología y que se suelen utilizar con fines de investigación. Algunas de estas técnicas son, entre otras, el inmunobloting o inmunotransferencia, test con anticuerpos monoclonales, el TAB y el estudio de IgE específica sérica frente a proteínas aisladas (purificadas o recombinantes) del parásito en ensayos multiplex *(microarray)*.

La técnica de **inmunobloting (figura 19)** se ha utilizado con el objetivo de poder discernir entre los pacientes sensibilizados clínicamente y aquellos con sensibilización subclínica. También se ha postulado su mejor especificidad frente a los "falsos positivos" obtenidos mediante la prueba cutánea o la determinación de la IgE específica sérica. Se han obtenido diferentes patrones de reconocimiento de proteínas que podrían deberse a diferentes estadios temporales de respuesta inmunológica

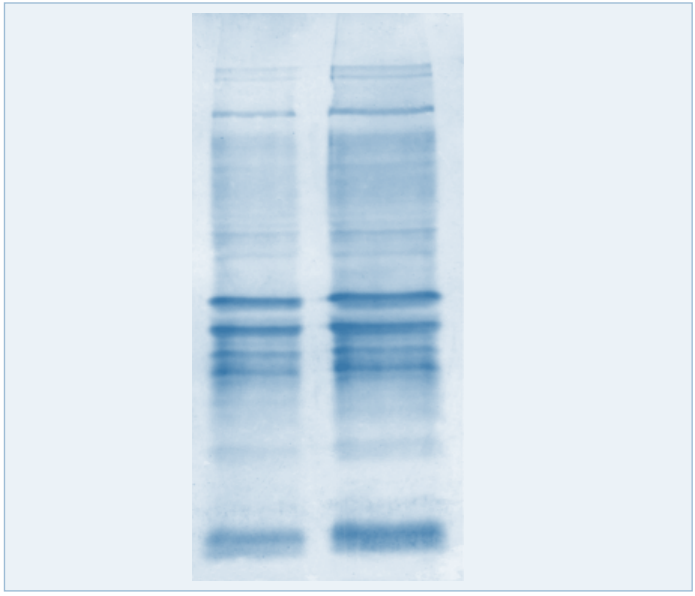


Figura 19. Múltiples bandas de reconocimiento en casos de alergia.

tras diversas exposiciones o rutas de exposición[76,178,187]. El inmunobloting muestra una sensibilidad del 83% y una especificidad del 93%, con un predominio significativo de blot con múltiples bandas en pacientes alérgicos y sin bandas en controles ($p < 0{,}0001$)[103,187].

También algunos **anticuerpos monoclonales**, desarrollados frente al parásito, se han utilizado para la técnica de ELISA-captura. Concretamente, el anticuerpo monoclonal mAb UA3

reconoce dos alérgenos inmunodominantes de 139 y 154 kDa. La técnica es capaz de detectar tanto anticuerpos tipo IgG como IgE en pacientes con anisakiosis gastroalérgica con una sensibilidad y una especificidad cercanas al 100%. Estos datos contrastan con los que se obtienen para el mismo tipo de pacientes mediante otros sistemas como inmuno-CAP (Phadia-Termofisher), que muestra también una sensibilidad cercana al 100% pero con una especificidad alrededor del 50%. Con el propósito de eliminar los epítopos antigénicos responsables de la reactividad cruzada entre parásitos nematodos y así descartar los falsos positivos, se han purificado los extractos crudos mediante cromatografía de afinidad utilizando sueros de conejos inmunizados. De entre los alérgenos purificados, se han realizado estudios con el alérgeno mayoritario: Ani s 1. El hecho de que este alérgeno sea reconocido por el 85% de los sujetos sintomáticos sugiere una importante relevancia clínica; sin embargo, de momento, no se ha podido establecer su uso ventajoso en el diagnóstico en la clínica alergológica[76,171,177].

La posibilidad de utilizar **proteínas purificadas** en el diagnóstico es una alternativa interesante, ya que se ha podido demostrar que son más precisas en comparación con el extracto crudo. En la actualidad se han realizado varios estudios diagnósticos con antígenos purificados y recombinantes, lo que abriría la posibilidad de diagnosticar con mayor especificidad los verdaderos casos de alergia y discriminarlos de las reactividades cruzadas. Actualmente no están disponibles comer-

cialmente para CAP pero sí en el ensayo multiplex *(microarray)* exclusivamente **Anis1 recombinante**.

En cuanto al **TAB (figuras 20 y 21)**, en los últimos años se ha preconizado como una técnica ex vivo que permite valorar la activación de los basófilos mediada por el receptor de la IgE de alta afinidad. Esta activación de los basófilos del paciente al ser expuestos a los antígenos, tanto en crudo como purificados, reproduce de alguna forma la patogenia de la reacción alérgica frente al parásito. Como ejemplo puede servir un caso de anafilaxia por *Anisakis*, en el cual el TAB permaneció positivo después de 11 años[80]. El diagnóstico mediante TAB con antígenos purificados (Ani S 3 y Ani s 4) puede mejorar la discrimi-

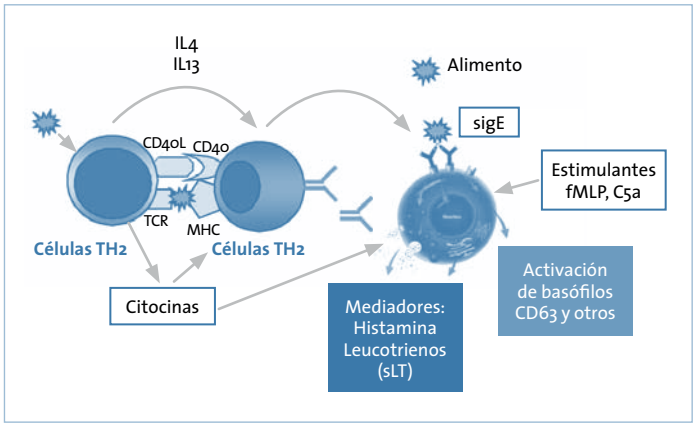


Figura 20. Fundamentos de la expresión de CD63 en un basófilo activado.

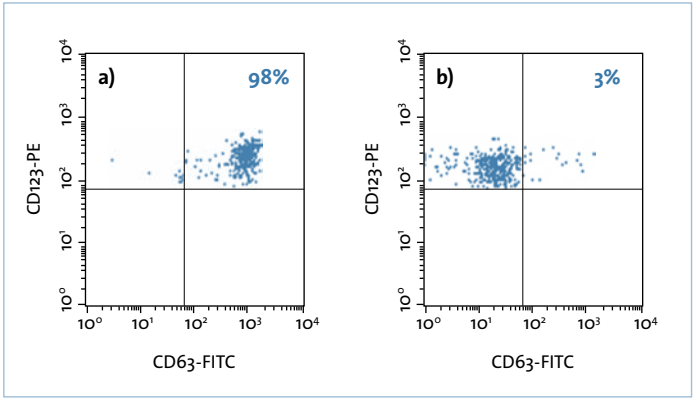


Figura 21. Imagen de TAB *a)* positivo con rAni s 1 (98%) y *b)* negativo (3%) con el mismo antígeno.

nación entre pacientes alérgicos, sensibilizados y reactividades cruzadas[188]. La introducción del TAB con alérgenos específicos y recombinantes podría ser útil para mejorar el diagnóstico de los pacientes sensibilizados a este parásito y optimizar así las medidas dietéticas[77,189].

7

TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN: FACTORES DE RIESGO

7. TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN: FACTORES DE RIESGO

7.1. Tratamiento de la parasitación

El tratamiento más efectivo de la anisakiosis gástrica es la extracción de las larvas durante la endoscopia, lo que conlleva la confirmación diagnóstica y la consiguiente desaparición, en pocas horas, de la sintomatología.

La anisakiosis intestinal, en muchas ocasiones, hace necesaria la intervención quirúrgica y resección del fragmento afectado. Sin embargo, cuando la sospecha de anisakiosis intestinal es firme, un tratamiento conservador mediante sueroterapia y antibióticos puede ser suficiente para la curación. En ocasiones se han empleado también corticoides para reducir la inflamación y evitar la cirugía[190]. En la anisakiosis de colon se puede realizar con éxito la extracción de las larvas mediante colonoscopia[176].

Aunque se han investigado numerosos tratamientos antiparasitarios (antihelmínticos), como el pamoato de pirantel, el tiabendazol y la ivermectina, entre otros, en la actualidad no existe tratamiento farmacológico efectivo. Las larvas de *A. simplex* se han mostrado muy resistentes a este tipo de fármacos, mientras que las del *P. decipiens* parecen ser sensibles a la ivermectina, al menos en estudios in vitro. Recientemente, un caso de prurito se ha tratado con éxito con dos ciclos de albendazol[136].

El tratamiento de la parasitación se fundamenta en la gastroscopia para la anisakidosis gástrica y en un tratamiento conservador en caso de sospecha de anisakidosis intestinal.

7.2. Tratamiento de alergia a 'Anisakis'

Los síntomas de alergia a *Anisakis* se tratan como otras reacciones alérgicas. El primer paso es sospechar la reacción, evaluar los síntomas y tratar con el arsenal terapéutico habitual: fármacos antihistamínicos, corticoides, broncodilatadores y adrenalina, en función de los síntomas que presente el paciente. Siempre habrá que estar atentos a los síntomas digestivos para indicar en su caso una endoscopia, ante la sospecha clínica de una parasitación concomitante con la reacción alérgica o tratar con protectores gástricos.

En caso de anafilaxia se debe adiestrar al paciente y a sus familiares cercanos en el manejo de la adrenalina autoinyectable, junto con fármacos antihistamínicos y corticoides.

Además, si se da el caso de que el paciente reciba tratamiento con betabloqueantes o IECA, se recomienda que sean sustituidos por otros hipotensores, ya que se consideran agravantes de la anafilaxia[152].

El tratamiento de la alergia es el convencional teniendo en cuenta la afectación digestiva y los posibles cofactores implicados.

7.3. Prevención

7.3.1. Prevención de parasitación

A diferencia de las bacterias, los parásitos no se multiplican en los alimentos ni producen toxinas, pero son muy resistentes a la refrigeración, aunque sean sensibles a los tratamientos térmicos y a la congelación. Una de las principales medidas de control de esta zoonosis es informar a la población sobre los riesgos que conlleva el consumo de pescado crudo o insuficientemente cocinado. Las larvas L3 contenidas en la musculatura del pescado pueden sobrevivir a varios tipos de prácticas gastronómicas. Así, las larvas de *Anisakis* pueden mantenerse viables hasta 25 días en mezclas de sal y vinagre, y si la concentración de sal disminuye, la supervivencia se puede prolongar hasta 119 días.

Actualmente, podemos afirmar que el congelado rápido (menos de -20 °C) y el cocinado que alcance temperaturas superiores a 60 °C, durante al menos dos minutos en el interior de la pieza, son las medidas más eficaces para evitar la parasitación en humanos[3].

Es probable que la patología inducida por *A. simplex* haya pasado inadvertida durante mucho tiempo, ya que en ocasiones una parasitación leve y transitoria que conlleve la expulsión de forma natural del parásito se ha podido confundir con una simple gastroenteritis. Sin embargo, en los últimos años, se ha dado a conocer no solamente entre los alergólogos, sino también entre otros colectivos médicos (generalistas, digestivos, radiólogos, intensivistas y aquellos que atienden en servicios de urgencias), así como veterinarios que inspeccionan alimentos. Este conocimiento de la patología proporciona, por un lado, las bases para diagnosticar mejor la enfermedad y, por otro, poner en marcha los mecanismos de control y prevención adecuados.

Los seres humanos se infectan por una única vía de transmisión, a través del consumo de alimentos que contienen larvas de *A. simplex*.

Las medidas de reducción de *Anisakis* en los pescados y cefalópodos deben abarcar toda la cadena alimentaria, desde las prácticas durante la captura en los barcos y su posterior manipulación y conservación, pasando por los tratamientos tec-

nológicos de los productos procesados, hasta las recomendaciones dirigidas al consumidor y a la restauración colectiva. Por tanto, es importante aplicar las buenas prácticas de higiene y los programas de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC) a lo largo de toda la cadena alimentaria.

En el hogar

Hoy en día, la mayoría de las toxiinfecciones alimentarias causadas por *A. simplex* se producen en el hogar por consumo de pescados y cefalópodos crudos o poco cocinados. Por ello, es necesario seguir unas buenas prácticas de manipulación, conservación y cocinado de los alimentos para asegurar la muerte larvaria:

- **Limpieza de las manos** antes de manipular cualquier alimento.
- **Desinfección de los utensilios, tablas, superficies.**
- **Comprar el pescado limpio y sin vísceras.** En caso contrario, eliminar las vísceras lo antes posible y lavar la cavidad visceral correctamente.
- **Mantener la cadena de frío durante el transporte de los pescados y cefalópodos crudos.**
- **Congelar pescado y moluscos a -20º C durante al menos 24 horas** si se van a consumir en crudo o tratados en frío (salmuera, vinagre, ahumado, marinado).

- **Cocinar correctamente el pescado y cefalópodos (a 60 ºC durante un mínimo de 10 minutos) y mantenerlos calientes hasta su consumo.** Dicha temperatura se alcanza en la cocción y fritura, pero en el caso de asado (horneado, brasa o plancha) se recomienda abrir el pescado para garantizar esa temperatura de 60º C en el interior de la pieza. **Tras su consumo, refrigerar los excedentes lo antes posible.**
- **Evitar consumir la región hipoaxial** (ventresca o ijada) **y pescados pequeños enteros con vísceras** (sardina, anchoa, etc.).
- **No descongelar los alimentos a temperatura ambiente,** sino en la parte baja del frigorífico.
- **Evitar la contaminación cruzada de alimentos crudos con cocinados.**

Legislación

Legislación europea

Como consecuencia de los casos crecientes de anisakiasis, la Unión Europea a partir del año 1991 comenzó a emitir una serie de normativas específicas para reducir esta enfermedad. La última modificación se realizó en diciembre del 2011.

a. Directiva 91/493/CEE del Consejo de 22 de julio de 1991 por la que se fijan las normas sanitarias aplicables a la producción y a la puesta en el mercado de los productos pesqueros. Comunidades Europeas (DOCE 268 de 24/09/91).

b. Decisión 93/140/CEE de la Comisión de 19 de enero de 1993, por la que se establecen las modalidades de control visual para detectar parásitos en los productos de la pesca. Comunidades Europeas (DOCE 56 de 09/03/93).

c. Reglamento 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo 29 de abril de 2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. Unión Europea (DOUE 139 de 30/04/2004).

d. Reglamento 854/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 por el que se establecen normas específicas para la organización de controles oficiales de los productos de origen animal destinados al consumo humano. Unión Europea (DOUE 139 de 30/04/2004).

e. Reglamento 1276/2011 de la Comisión de 8 de diciembre de 2011 por el que se modifica el Anexo III del Reglamento 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo referente al tratamiento para matar parásitos viables en los productos de la pesca destinados al consumo humano. Unión Europea (DOUE 327, 09-1-11). Añadido con el fin de incluir los nuevos puntos de vista científicos recogidos en el dictamen de la EFSA (2010).

Algunas de las especificaciones que recogen las normativas (a-d) son las siguientes:

- Los operadores de la empresa alimentaria deben garantizar que los productos de la pesca se hayan sometido a un exa-

men visual con el fin de detectar los parásitos visibles antes de ser puestos en el mercado.

- No podrán comercializarse en el mercado para consumo humano los productos de la pesca que estén claramente infestados con parásitos.
- Los operadores de la empresa alimentaria deben garantizar que los productos destinados a consumo crudo o prácticamente crudo se sometan a un tratamiento de congelación (-20 ºC en el interior del pescado, durante al menos 24 horas). De forma similar, los productos en escabeche (cuando este proceso no baste para matar las larvas) y las especies de arenque, caballa, espadín y salmón salvaje del Atlántico o del Pacífico, cuando se traten mediante ahumado en frío (<60 ºC) también deben someterse a congelación.

Consideraciones añadidas por el Reglamento de 2011:

- Los operadores de empresas alimentarias que pongan en el mercado productos de la pesca consumidos crudos o escabechados, en salazón o sometidos a cualquier otro tratamiento, si este es insuficiente para matar al parásito viable, deben garantizar que la materia prima o el producto acabado son sometidos a tratamiento por congelación para matar los parásitos viables.
- Los parásitos distintos a los trematodos deben someterse a tratamiento por congelación, en la totalidad del producto, a

una temperatura -20 °C durante al menos 24 horas, o -35 °C durante al menos 15 horas.

- No hace falta que los operadores de empresas alimentarias lleven a cabo el tratamiento de congelación en aquellos productos que han sido sometidos a tratamientos que maten los parásitos viables ya sea por temperatura (>60 °C, 1 minuto) o congelación. Tampoco aquellos que procedan de capturas salvajes a condición de que los datos epidemiológicos del caladero demuestren ausencia de parásitos y que las autoridades competentes lo autoricen; o que procedan de la acuicultura, alimentados con dieta libre de parásitos viables, comprobado por la empresa alimentaria y autorizado por la autoridad competente.
- Los productos sometidos a congelación deben ir acompañados de un documento del operador de la empresa alimentaria que especifique el tipo de proceso al que han sido sometidos los productos.
- A través de un documento informativo, se debe garantizar que los productos de la pesca que proceden de un caladero o de una piscifactoría están libres de parásitos viables y que reúnen las condiciones necesarias para su comercialización.

Legislación española

a. Real Decreto 1437/92, de 27 de noviembre, por el que se fijan las normas sanitarias aplicables a la producción y comercia-

lización de los productos pesqueros y de la acuicultura (BOE 11, 13-01-93).

b. Real Decreto 1420/2006, del 1 de diciembre, sobre prevención de la parasitosis por *Anisakis* en productos de la pesca suministrados por establecimientos que sirven comida a los consumidores finales o a colectividades (BOE 302, 19-12-06).

Referente a los parásitos, se determina que tanto los pescados como los productos derivados del pescado tendrán que pasar un control visual para detectar los posibles parásitos visibles y desecharlos. Por otra parte, se prohíbe la venta de los pescados o las partes de estos que estén muy parasitados. Finalmente, son los barcos factoría y las industrias dedicadas a la elaboración y preparación de los productos de la pesca los responsables de realizar el control para garantizar el cumplimiento de dicha ley. En el decreto del año 2006 se fija la obligatoriedad para los establecimientos que sirven comida de someter todos los pescados que se vayan a servir en crudo o casi crudos a una temperatura inferior a -20 °C durante al menos 24 h. Esto incluye productos de la pesca que han sido sometidos a un proceso de ahumado en frío en el que la temperatura central del producto no ha sobrepasado los 60 °C y los preparados en escabeche o salados, cuando este proceso no baste para garantizar la muerte larvaria.

7.3.2. Prevención de alergia a 'Anisakis'

Teniendo en cuenta que en nuestro país habitualmente ingerimos la musculatura de los peces y que los parásitos se encuen-

tran fundamentalmente a nivel del cefalotórax de los peces, hay que valorar que el grado de parasitación varía mucho entre las distintas especies, como se ha comentado previamente, y depende mucho de qué zona de la musculatura vamos a ingerir. La musculatura principal del pez está colocada simétricamente a ambos lados de la columna vertebral en forma de V invertida **(figura 22)**. En la región ventral del cuerpo se modifica la disposición de los músculos antes descrita, formando los músculos lisos ventrales.

La exclusión de la musculatura ventral (hipoaxial) puede reducir la carga parasitaria en más del 90% y, por tanto, el peligro asociado a *Anisáis*[35,76].

Los pacientes con reacciones alérgicas a *Anisakis* confirmadas deberían seguir las siguientes recomendaciones:

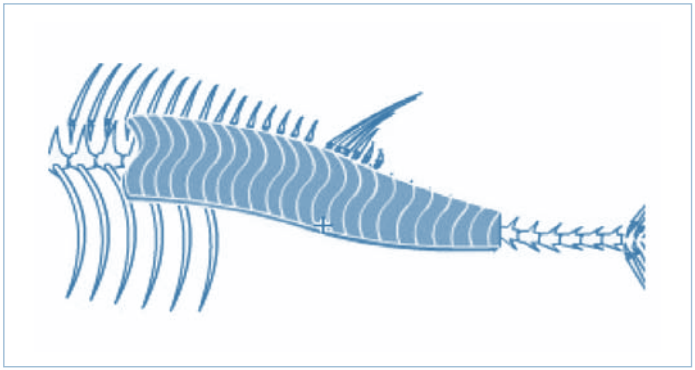


Figura 22. Región dorsal y caudal de la musculatura más segura respecto a parasitación por anisákidos.

1. Opción más prudente en casos de reacciones muy graves:

a. Seguir las mismas normas mencionadas para la prevención de parasitación de cocinar y/o congelar el pescado convenientemente, junto con las normas de higiene de los alimentos.

b. Evitar pescados marinos y cefalópodos (calamares, sepias, pulpo). Como alternativa pueden ingerir los pescados de río, el salmón de piscifactoría y los mariscos.

c. Evitar productos elaborados con pescados y procesados (surimi, gulas, croquetas y precocinados varios) a base de pescado.

d. Evitar ingestión de platos de pescado fuera del domicilio y llevar consigo el kit de adrenalina.

e. Valorar los cofactores que pueden incrementar el riesgo de presentar una reacción alérgica a este parásito (IECA, betabloqueantes, AINE).

2. Opción práctica o en reacciones leves/moderadas:

a. Seguir las mismas normas mencionadas para la prevención de parasitación de cocinar y/o congelar el pescado convenientemente, junto con las normas de higiene de los alimentos.

b. Evitar las especies de pescado más parasitadas y los pescados pequeños, con objeto de no ingerir la musculatura adyacente a la región abdominal (región hipoaxial, ventresca

o ijada). Entre los pescados más parasitados se encuentran: merluza, bacaladilla, bacalao, locha, anchoas y salmonetes, entre otros. Ingerir, previo aleccionamiento de inspección visual, la parte de la cola de pescados con menos presencia de parásitos (atún, bonito, caballa, gallo) y pescados de piscifactoría.

c. Evitar productos elaborados con pescados y procesados (surimi, gulas, croquetas y precocinados varios) a base de pescado.

d. Evitar la ingestión de platos de pescado fuera del domicilio y llevar consigo el kit de adrenalina.

e. Valorar los cofactores que pueden incrementar el riesgo de agravar una reacción leve a este parásito (IECA, betabloqueantes, AINE).

Posiblemente, a largo plazo, el consumo de pescado bien cocinado y precongelado podría reducir la incidencia de alergia, si se considera necesaria una parasitación previa, tema que aún está por resolver.

Los nematodos contenidos en la musculatura del pescado pueden sobrevivir a varios tipos de prácticas gastronómicas.

A pesar de que se han probado varias estrategias para conseguir la muerte larvaria antes de su consumo, el congelado rápido (menos de -20 °C) y el cocinado que alcance temperaturas superiores a 60 °C, en el interior de la pieza, parecen seguir siendo las medidas más eficaces para evitar la parasitación en humanos.

7.4. Factores de riesgo de alergia a 'Anisakis'

Habitualmente, se consideran factores de riesgo para que se produzcan reacciones graves frente a alimentos: la edad infanto-juvenil, múltiples alergias alimentarias, la presencia de asma mal controlada, la ausencia de adrenalina disponible y el comer fuera del domicilio. En el caso de la alergia a *Anisakis* solo pueden considerarse los dos últimos factores.

Generalmente, la atopia se define como una predisposición a padecer varias enfermedades alérgicas como rinitis, asma, dermatitis y alergia a alimentos, y tiene una base genética y, por lo tanto, hereditaria. Sin embargo, los pacientes con reacciones graves frente a *Anisakis* son no atópicos y, además, se les manifiesta esta patología a mediana edad. Incluso se considera que los pacientes llamados atópicos presentan un riesgo menor de sufrir alergia a estos parásitos.

La atopia no se considera un factor de riesgo para *Anisakis*. En cambio, el consumo de pescado crudo, cofactores como fármacos (AINE, hipotensores) y la edad por encima de los 40 años sí son factores de riesgo.

Sin embargo, el hecho de consumir pescado crudo o poco cocinado sí que parece predisponer a un desarrollo de respuesta alérgica en el futuro, probablemente una exposición al parásito vivo sea capaz de estimular la respuesta de anticuerpos de forma más eficaz que el parásito muerto.

En estudios estadísticos de reacciones graves se ha demostrado que la edad y los niveles altos de IgE específica (CAP) son los factores de riesgo asociados.

Hay situaciones que parecen incrementar el riesgo de presentar una reacción alérgica a este parásito y que, curiosamente, son más frecuentes en la franja de edad que va de los 40 años en adelante:

- La pérdida o alteración de la función de la barrera digestiva por la toma de AINE u otros gastroerosivos. La toma de inhibidores de la bomba de protones y/o antiácidos.
- Toma de hipotensores: IECA, betabloqueantes.

Finalmente, es posible que exista una predisposición genética asociada a las reacciones más graves a este parásito que, sin

embargo, no se asocia a reacciones frente a otros alimentos o inhalantes. Puesto que los humanos somos hospedadores accidentales para las larvas de *A. simplex*, no es esperable que se haya dado un factor de selección evolutivo. Sin embargo, algunos trabajos muestran una predisposición genética frente a la alergia por *A. simplex* en relación con la presencia de determinados alelos de HLA clase II. Esta asociación podría explicar algunas diferencias de alergia en poblaciones concretas como ocurre con algunos fármacos. También algunas series de pacientes incluyen familias.

En cuanto a los factores que dependan del propio parásito, algunos autores han sugerido que las larvas de *P. decipiens*, especialmente aquellas procedentes de EE. UU. son menos invasivas y patógenas que las de *A. simplex*[80].

7.5. Medidas que garantizan la muerte larvaria

En distintos países, la anisakidosis en humanos se aprecia como un problema de seguridad alimentaria y se describe a *A. simplex* como responsable del 33% de las alertas por riesgo biológico específico[191]. España es uno de los países que más pescado consume dentro de la Comunidad Europea y se encuentra en el segundo grupo de países consumidores de todo el mundo (entre 30 y 60 kg/persona/año). Habida cuenta de la importancia del pescado en nuestra dieta, el conocimiento de los riesgos que puede suponer su consumo no debería hacer que cambien nuestros hábitos alimenticios en el sentido de restringirlo. La

población general debería comer con normalidad cualquier clase de pescados comprados con las garantías sanitarias vigentes en nuestro país y cocinados según las medidas habituales de higiene y las recomendaciones referidas en cuanto a emplear de forma adecuada la temperatura de cocción y el tiempo necesarios para garantizar la seguridad de su consumo.

Es importante tener en cuenta los platos de riesgo como se ha comentado previamente y evitar el consumo de pescados crudos que no hayan sido previamente congelados.

7.5.1 Tratamientos que aseguran la muerte larvaria

La Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN, 2011)[16] ha propuesto una serie de pautas para la reducción del riesgo asociado con la contaminación de los pescados con larvas de *Anisakis*, e indica que dichas medidas deben contemplase en todos los eslabones de la cadena producción-consumo, es decir, tanto a nivel de producción primaria (áreas, tipos de capturas y prácticas de capturas), como en la manipulación a bordo o en tierra.

Sector extractivo

En la pesca extractiva, para evitar la comercialización de pescados con un alto grado de infestación, se ha recomendado no

faenar en zonas muy contaminadas con Anisákidos, así como capturar determinadas especies o determinadas talla de una especie. Otro grupo de medidas están dirigidas a prevenir la presencia de larvas en el pescado que se va a comercializar. En este sentido se recomienda:

- Eviscerar el pescado en alta mar, inmediatamente después de la su captura, a fin de evitar la migración hasta la musculatura.
- Descartar la musculatura hipoaxial, ya que se ha comprobado que esta zona es propensa a contener la mayor cantidad de larvas de *A. simplex*.
- Retirar las partidas muy parasitadas.
- La congelación rápida en el buque es un método eficaz de producir la muerte de las larvas de *A. simplex*. Sin embargo, la congelación no destruye la capacidad de producir alergia en el consumidor debido a los antígenos presentes en la larva o en el músculo.

Industria transformadora

En la industria transformadora, las directrices están enfocadas en la detección de las larvas por distintos métodos y la eliminación de las larvas visibles de las zonas infestadas. El perjuicio causado está en función de la tasa de infestación, de la localización de las larvas pero, sobre todo, del valor comercial de la zona infestada.

Los métodos empleados en la industria son no destructivos y automatizados para que puedan ser aplicados a las líneas de producción industrial. Comercialmente, la forma más habitual de detectar la presencia de parásitos es mediante la inspección visual y la transiluminación. Actualmente se están ensayando nuevas técnicas.

Acuicultura

Se considera que en las especies cultivadas con pienso seco el riesgo de infestación con *Anisakis* es casi inexistente, debido, principalmente, a las condiciones controladas de cultivo[192]. Sin embargo, se han encontrado en algunos casos aislados de anisákidos en vísceras y en músculo de especies cultivadas[193]. Las vías de transmisión pueden deberse a la presencia en el medio marino de hospedadores intermediarios (crustáceos) o a través de la alimentación de los peces cultivados con productos contaminados[59]. En tal sentido, se recomienda evitar en lo posible la presencia de mamíferos marinos y aves ictiófagas y evitar que la alimentación de los peces cultivados se realice con productos contaminados con larvas vivas.

Por otro lado, el Reglamento 1276/2011 especifica que las especies procedentes de la acuicultura, criadas a partir de embriones y alimentadas exclusivamente con una dieta libre de parásitos viables, no tendrán que ser sometidas a congelación, siempre y cuando la empresa alimentaria se encuentre autorizada para tal fin.

- Reglamento 1276/2011 de la comisión de 8 de diciembre de 2011 que modifica el anexo III del Reglamento 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo referente al tratamiento para matar parásitos viables en los productos de la pesca destinados al consumo humano. Diario Oficial de la Unión Europea, DOUE L327/39 de 9.12.2011. Disponible en:

  http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:327:0039:0041:ES:PDF

En la actualidad no existen estudios publicados que determinen si existe riesgo de consumo de pescados alimentados con piensos con alérgenos.

7.5.2. Tratamientos tecnológicos aplicados para la inactivación de las larvas de 'Anisakis' en pescado

El informe de la EFSA (2010)[3] considera que la aplicación de tratamientos de congelación y de calentamiento de *A. simplex* durante un determinado tiempo y temperatura son suficientes para producir la muerte de las larvas y evitar la infestación de los consumidores. A continuación se citan, además, otros tratamientos tecnológicos aplicados al pescado infestado que corresponden a estudios aislados en condiciones específicas[4].

Adición de salmuera

Las larvas de *Anisakis* son sensibles al tratamiento en salmuera bajo ciertas condiciones. En arenques, se ha estimado que

28 días de almacenamiento con salmuera al 6,3% y al 3,7% de ácido acético son suficientes para matar las larvas presentes[194]. Por otro lado, se ha demostrado que bajo condiciones industriales de producción de arenques salados, el tiempo necesario para matar las larvas es de 20 días[3].

De acuerdo a un estudio realizado por la AESAN en 2007, se estima que cuando la concentración de NaCl en el pescado infestado supera el 8-9% durante al menos 6 semanas, no es necesaria la congelación del producto para matar las larvas[15].

Marinado

Se considera que estos tratamientos dados en condiciones domésticas o industriales no son suficientes para producir la muerte de las larvas, por lo que en Europa es obligatorio para los establecimientos que comercializan pescado crudo o con tratamientos que no matan las larvas, congelar el pescado que se va a someter a estos tratamientos. El tiempo y las condiciones de marinado para producir la muerte de las larvas depende de la especie de pescado y de la concentración de sal en el medio, y puede variar entre 35 a 119 días[194].

Para producir la muerte de las larvas a condiciones de pH ácido se ha propuesto el tratamiento de pescado parasitado con una alta concentración de ácido acético (10%) y sal (12%), seguido de un lavado para disminuir la concentración a niveles sensoriales aceptables por el consumidor[195].

Por otro lado, en boquerones en vinagre hechos a partir de filetes frescos y congelados, se han detectado Ani s 4 y otros alérgenos de *A. simplex* durante todo el periodo de conservación en refrigeración en la fase líquida y en el músculo fresco y congelado, por lo que aunque el tratamiento se efectúe en pescado previamente congelado no se descarta la posibilidad de que aquellos consumidores alérgicos puedan sufrir reacciones alérgicas[138].

Ahumado

Se ha establecido que las condiciones de ahumado en caliente, 70-80 °C durante un tiempo de 3 a 8 horas, son suficientes para producir la muerte de las larvas de *Anisakis*. Por otro lado, el ahumado en frío, en el que la temperatura del producto se mantiene por debajo de 60 °C, no es suficiente para producir la muerte de las larvas, por lo que es necesario someter el producto a congelación[3].

Altas presiones

El objetivo principal del tratamiento por altas presiones en pescado infestado es producir la muerte de las larvas sin causar cambios en el músculo de pescado que alteren la apariencia y características del pescado crudo. En general, la presurización favorece la muerte de la larva; sin embargo, puede producir desnaturalización de las proteínas del pescado y generar modificaciones intraproteínas e interproteínas que alteran las propiedades del pescado.

Electrocución

Se trata de un método patentado[196] que consiste en someter los pescados recién capturados a una corriente eléctrica por inmersión en recipientes con una disolución de electrolitos donde el ánodo y el cátodo proporcionan una intensidad que puede variar en función de tamaño y características del pescado y parásito a eliminar. Se aplica de forma individualizada en especies de gran tamaño o de forma masiva en especies pequeñas. Los autores de la patente consideran que se inactivan las larvas sin que se produzcan cambios sensoriales en el pescado.

Irradiación

De acuerdo con la EFSA (2010), los tratamientos de irradiación no son considerados adecuados debido a que las dosis eficaces para producir la muerte de las larvas son muy superiores a las recomendadas para aplicar a pescado y mariscos (3 kGy)[3].

Adición de extractos vegetales y otros productos

Diversos estudios experimentales han determinado que productos vegetales como el jengibre *(Zingiber officinale)* contienen principios activos, como el shogaol y el gingerol, que matan las larvas de *Anisakis* bajo condiciones especificas[197-199].

Otros derivados vegetales estudiados en el tratamiento de estas larvas son las hojas de *Perilla* que se consumen como acom-

pañamiento de platos de pescado crudo en países del Este. De forma similar, otros estudios in vivo e in vitro han evaluado la actividad larvicida de ciertos derivados monoterpénicos obtenidos de aceites esenciales que producen la muerte larvaria asociada a cambios en la cutícula y rotura de su pared intestinal. Los estudios in vivo se han llevado a cabo en ratas: administrando estos compuestos conjuntamente con las larvas, se ha objetivado que solo el 20% presentaban lesiones digestivas frente al 86% de los controles. Los estudios in vitro tratan de adicionar dichas sustancias a alimentos infestados para disminuir la patogenicidad de la larva[199-201]. Se requieren estudios adicionales para evaluar si estos extractos se pueden aplicar a la cocina europea.

En los últimos años se trabaja, tanto en el sector extractivo como en la industria transformadora, la restauración y la acuicultura en el sentido de disminuir la prevalencia de la parasitación de los pescados. Además de los métodos de congelación y tratamiento térmico adecuados, se consideran seguras otras técnicas como determinadas salmueras, ahumado en caliente y electrocución, entre otras. La adición de vegetales (por ejemplo, hierbas chinas) está en experimentación.

7.6. Otras posibles medidas de futuro

7.6.1. Tratamientos que reduzcan la alergenicidad

Hasta el momento actual no se han desarrollado técnicas capaces de reducir o mitigar la alergenicidad de platos de pescado que contengan larvas L3 de anisákidos.

7.6.2. Vacunas frente a 'Anisakis'. ¿Los parásitos beneficiosos?

La posibilidad de desarrollar vacunas frente a alimentos se está investigando en los últimos años, fundamentalmente con el objetivo de evitar situaciones de riesgo en los casos de reacciones graves con pequeñas cantidades del alimento (llamadas trazas). Se ha llevado a cabo con éxito por algunos grupos de investigación y están en marcha estudios serios, fundamentalmente con alimentos muy básicos, como la leche y el huevo, y con otros de muy difícil control, como algunos frutos secos.

Por el momento esta posibilidad en relación con el parásito *Anisakis* no es factible. En este momento se está investigando muy a fondo en identificar las distintas fracciones de antígenos, lo cual va a ser, sin duda, un avance en el diagnóstico y puede abrir las posibilidades de vacunación[178].

De hecho, a nivel experimental, se han llevado a cabo vacunaciones con extractos de otros parásitos, pero con el objetivo de tratar precisamente algunas enfermedades intestinales y/o autoinmunes. Basándose en la teoría de la higiene, en los

últimos años, se está viendo a los parásitos desde un prisma diferente: el de su posible efecto terapéutico. Aunque parezca extraño, se han ensayado extractos parasitarios para el tratamiento de enfermedades inflamatorias intestinales y como adyuvantes en desensibilización con frutos secos.

Otro nematodo, concretamente *Caenorhabditis elegans*, ante la falta de alimento, puede entrar en un estado que le permite detener su desarrollo. Este proceso se revierte cuando el organismo vuelve a disponer de alimento, ya que entonces retoma su desarrollo normal, aunque con el añadido de haber aumentado su esperanza de vida. Este proceso puede llevarle a duplicar la esperanza de vida estipulada en un principio.

Por lo tanto, es posible que en un futuro no muy lejano veamos tratamientos basados en parásitos o antígenos parasitarios para tratar enfermedades inflamatorias, alérgicas o, incluso, para frenar el envejecimiento o el cáncer.

8

CONCLUSIONES GENERALES Y NUEVOS RETOS

8. CONCLUSIONES GENERALES Y NUEVOS RETOS

Los anisákidos son los parásitos marinos que más enfermedades producen en el mundo occidental.

Pueden dar lugar a enfermedades por dos vías: la parasitación (generalmente transitoria) y la reacción alérgica (consecuencia de despertar una respuesta inmunitaria de tipo IgE).

La patología inducida por el parásito *A. simplex* es más frecuente en pacientes adultos y no suele ir asociada a haber padecido previamente otras enfermedades alérgicas.

Este parásito puede ocasionar desde un simple cuadro que simule una gastroenteritis hasta un choque anafiláctico que requiera tratamiento en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI).

En las últimas dos décadas, *Anisakis* ha pasado de ser un parásito desconocido a una de las causas de alergia de estudio habitual en las baterías de pruebas que se realizan en las consultas

de alergia. De este modo, algunas reacciones alérgicas que con anterioridad se consideraban de origen incierto o desconocido disponen actualmente de un diagnóstico etiológico claro y, por lo tanto, los pacientes pueden disponer de información para prevenir futuras reacciones.

Los individuos de la población general, como consumidores, deben conocer los riesgos que conlleva el consumo de pescado crudo o poco cocinado en cuanto a la parasitación. Los cambios en los hábitos de vida acontecidos en las últimas décadas en los países desarrollados y el aumento de la expectativa de vida con los tratamientos que ello conlleva, hacen previsible en la población general un incremento de factores favorecedores de reacciones alérgicas a estos parásitos. Sin embargo, en los últimos años hemos asistido a importantes avances en el conocimiento de la patología inducida por *Anisakis*. En este sentido, desde los profesionales sanitarios, hasta el sector pesquero, los comerciantes, la población en general y la Administración, se ha avanzado en la difusión de estas enfermedades, con el consiguiente efecto facilitador de la prevención y el diagnóstico precoz.

Aunque aún existen casos que se mueven en la incertidumbre entre un nivel significativo de IgE o una reactividad cruzada con otras fuentes alergénicas, en la actualidad, gracias al diagnóstico por componentes, nos encontramos en vías de resolver estas dudas. En los próximos años se espera un avance significativo tanto en el conocimiento de técnicas diagnósticas

rápidas para identificar los pacientes en riesgo como en detectar los parásitos o sus proteínas en el pescado o platos elaborados con pescado.

En cualquier caso, el estudio de este parásito ha sido apasionante desde diversos puntos de vista, ya que ha permitido reavivar el interés por los parásitos, ha posicionado la alergología española en el lugar que se merece y ha permitido hacer contactos con otros profesionales tanto de la medicina como de la veterinaria, parasitología e, incluso, investigación básica. En la actualidad, existen multitud de trabajos centrados en la problemática generada por la infestación de los peces y humanos por *Anisakis*, y no hay más que teclear la palabra *Anisakis* en Google para comprobarlo. La palabra **anisakis**, junto con **prima de riesgo**, **tunear** y **wifi**, se han convertido oficialmente, entre otras novedades, en acepciones españolas después de que la Real Academia Española las haya incluido en la 23 edición del Diccionario de la lengua española en 2014.

9

BIBLIOGRAFÍA

9. BIBLIOGRAFÍA

1. FAO Statistics. Disponible en: http://www.fao.org/fishery/en
2. Chai JY, Darwin Murrell K, Lymbery AJ. Fish-borne parasitic zoonoses: statusand issues. Int J Parasitol. 2005;35:1233-54.
3. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); Scientific Opinion on risk assessment of parasites in fishery products. EFSA Journal 2010;8(4):1543 (91 pp.). doi:10.2903/j.efsa.2010.1543. Disponible en: www.efsa.europa.eu
4. World Health Organization (WHO). Report of Joint WHO/FAO Workshop on Foodborne Trematode Infections in Asia, Ha Noi, Vietnam, 26-28 November, 2002. WPRO: 2004. p. 1-58.
5. Van Thiel P, Anisakis. Parasitology. 1960;53:16.
6. Van Thiel P, Kuipers FC, Roskam RT. A nematode parasitic to herring causing acuteabdominal syndromes in man. Trop Geogr Med. 1960;12:97-113.
7. Audicana M, García M, Del Pozo MD, Moneo I, Díez J, Muñoz D, et al. Clinical manifestations of allergy to Anisakis simplex. Allergy. 2000;55:28-33.
8. Audicana MT, Ansotegui IJ, de Corres LF, Kennedy MW. Anisakis simplex: dangerous-dead and alive? Trends Parasitol. 2002;18:20-5.
9. Bouree P, Paugam A, Petithory JC. Anisakidosis: report of 25 cases and review of the literature. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 1995;18:75-84.

10. Reglamento (CE) nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. DO L 226 de 25/06/2004, p. 22-82.
11. BOE nº 302. Real decreto 1420/2006, de 1 de diciembre sobre prevención de la parasitoris por anisakis en productos de la pesca suministrados por establecimientos que sirven comida a los consumidores finales o a colectividades. p. 44547-9.
12. De Ley P, Blaxter M. A new system for Nematoda: combining morphological characters with molecular trees, and translating clades into ranks and taxa. En: Cook R, Hunt DJ, editores. Nematology Monographs and Perspectives. Leiden: E.J. Brill; 2004. Vol. 2, p. 633-53.
13. Kassai T, Cordero del Campillo M, Euzeby J, Gaafar S, Hiepe TH, Himonas CA. Standardized nomenclature of animal parasitic diseases (SNOAPAD). Vet Parasitol. 1988;29:299-326.
14. Anderson RC. The origins of zooparasitic nematodes. Can J Zool. 1984;62:317-28.
15. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Opinión del Comité Científico de la AESA sobre una cuestión presentada por la Presidencia, en relación con los factores favorecedores de la aparición de alergia a Anisakis, así como de las medidas de prevención aplicables. AESAN, Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. 2011. Disponible en: http://www.aesan.mspsi.es/AESAN/docs/docs/evaluacion_riesgos/comite_cientifico/COMITE_CIENTIFICO_ANISAKIS.pdf
16. Levsen A, Midthun E. Occurrence and spatial distribution of Anisakis sp. in three commercially important pelagic fish stocks from the NE Atlantic, with comments on the significance to consumer safety. Parassitologia. 2007; 402-3.
17. Levsen A, Lunestad BT. Anisakis third stage larvae in Norwegian spring spawning herring (Clupeaharengus L.), with emphasis on larval distribution in the flesh. Vet Parasitol. 2010;171,247-53.
18. Urawa S, Fujisaki Y. Heavy infection of Anisakis simplex (Nematoda: Anisakidae) larvae in the muscle of maturing chum salmon: a preliminary

report. (NPAFC Doc. 993). Sapporo: National Salmon Resources Center, Fisheries Research Agency, Toyohira-ku; 2006. 062-0922.
19. Guzmán Díez. AZTI - Tecnalia/Unidad de Investigación Marina. Disponible en: www.azti.es.
20. Aspholm, P. Sealworm (Pseudoterranova decipiens) infection in common seals (Phocavitulina) and potential intermediate fish hosts from the outer Oslo fjord. Int J Parasitol. 1995;25:367-73.
21. Perdiguero-Alonso, D. Composition and structure of the parasite faunas of cod, Gadusmorhua L. (Teleostei: Gadidae), in the North East Atlantic. Parasit Vectors. 2008;1:1-18.
22. Ishikura H, Kikuchi K, Nagasawa K, Ooiwa T, Takamiya H, Sato N. Anisakidae and anisakidosis. En: Sun T, editor. Progress in clinical parasitology. New York: Springer-Verlag; 1993. Vol. III, p. 43-102.
23. Kagei N, Orikasa H, Hori E, Sannomiya A, Yasumura Y. A case of hepatic anisakiasis with a literal survey for extra-gastrointestinal anisakiasis. Jpn J Parasitol. 1995;44:346-51.
24. Asaishi K, Nishino C, Hayasaka H. Geographical distribution and epidemiology. En: Ishikura H, Namiki M, editores. Gastric anisakiasis in Japan. Epidemiology, diagnosis, treatment. Tokyo: Springer-Verlag; 1989.
25. Smith JW, Wootten R. Anisakis and anisakiasis. Adv Parasitol. 1978;16:93-163.
26. Goto C, Kasuya S, Koga K, Ohtomo H, Cagei N. Lethal efficacy of extract from Zingiberofficinale (traditional Chinese medicine) or [6]-shogaol and [6]-gingerol in Anisakis larvae in vitro. Parasitol Res. 1990;76:653-6.
27. Deardorff TL, Kayes SG, Fukumura T. Human anisakiasis transmitted by marine food products. Hawaii Med J. 1991;50:1-16.
28. Deardorff TL, Kent ML. Prevalence of larval Anisakis simplex in pen-reared and wild-caught salmon (Salmonidae) from Puget Sound, Washington. J. Wildl Dis. 1989;25:416-9.
29. Deardorff TL, Overstreet RM. Seafood-transmitted zoonoses in the United States: the fishes, the dishes, and the worms, En: Ward DR, Hackney C, editores. Microbiology of marine food products. New York: Van Nostrand Reinhold; 1990. p. 211-65.

30. Adams AM, Leja LL, Jinneman K, Beeh J, Yuen GA, Wekell MM. Anisakis parasites, Staphylococcus aureus and Bacillus cereus in sushi and sashimi from Seattle area restaurants. J Food Prot. 1994;57:311-17.
31. Mudry J, Lefebvre P, Dei-Cas E, Vernes A, Poirriez J, Débat M. Anisakiase humaine: 5 cas dans le nord de la France. Gastroenterol Clin Biol. 1986;10:83-7.
32. Verhamme MAM, Ramboer CHR. Anisakiasis caused by herring in vinegar: a little known medical problem. Gut. 1988;29:843-7.
33. Daschner A, Alonso-Gómez A, Barranco P, Suárez de Parga JM, López-Serrano MC. Gastric anisakiasis: an underestimated cause of acute urticaria and angio-oedema. Br J Dermatol. 1898;139:822-8.
34. Alonso-Gómez A, Moreno-Ancillo A, López-Serrano MC, Suárez de Parga JM, Daschner A, Caballero MT. Anisakis simplex only provokes allergic symptoms when the worm parasitises the gastrointestinal tract. Parasitol Res. 2004;93:378-84.
35. www.elika.net/datos/pdfs.Wiki-Elika.http://wiki.elika.net/index.php/Anisakis.
36. Deardorff TL, Kayes SG, Fukumura T. Human anisakiasis transmitted by marine food products. Hawaii Med J. 1991;50:9-16.
37. Deardorff TL, Overstreet RM. Seafood-transmitted zoonoses in the United States: the fishes, the dishes, and the worms. En: Ward DR, and C. Hackney C, editores. Microbiology of marine food products. New York: Van Nostrand Reinhold; 1990. p. 211-65.
38. Couture C, Measures L, Gagnon J, Desbiens C. Human intestinal anisakidosis due to consumption of raw salmon. Am Surg Pathol. 2003;27:1167-72.
39. Cabrera R, Del Pilar M, Altamirano T. Anisakidosis a marine parasitic zoonosis: unknown or emerging in Perú? Rev Gastroenterol Peru. 2004; 24:335-42.
40. Deardorff TL, Kayes SG, Fukumura T. Human anisakiasis transmitted by marine food products. Hawaii Med J. 1991;50:9-16.
41. Im K, Shin H, Kim B, Moon S. Gastric anisakiasis cases in Cheju-do, Korea. Korean J. Parasitol. 1995;33:179-86.

42. Kliks MM. Anisakiasis in the western United States: four new case reports from California. Am J Trop Med Hyg. 1993;32:526-32.
43. Lucas SB, Cruse JP, Lewis AAM. Anisakiasis in the United Kingdom. Lancet. 1985;2:843-4.
44. Moschella CM, Mattiucci S, Mingazzini P, De Angelis G, Assenza M, Lombardo F, et al. Intestinal anisakiasis in Italy: case report. J Helminthol. 2004;78:271-3.
45. Plath F, Holle A, Zendeh D, Moller FW, Barten M, Reisinger EC, Liebe S. Anisakiasis of the stomach—a case report from Germany. Z Gastroenterol. 2001;39:177-80.
46. Nieuwenhuizen N, Lopata A. Allergic reactions to Anisakis found in fish. Curr Allergy Asthma Rep. 2014;14:455.
47. Sakanari JA, McKerrow JH. Anisakiasis. Clin Microbiol Rev. 1989;2:278-84.
48. Watt IA, Mclean NR, Girdwood RWA, Kissen LH, Fyfe AHB. Eosinophilic gastroenteritis associated with a larval anisakine nematode. Lancet. 1979; 2:893-94.
49. Audicana MT, Del Pozo MD, Iglesias R, Ubeira FM. Anisakis simplex and Pseudoterranova decipiens. En: Learmonth R, Milliotis MD, editores. International handbook of foodborne pathogens. 1ª ed. New York: Marcel Dekker; 2003. p. 613-36.
50. Mercado R, Torres P, Maira J. Human case of gastric infection by a fouth larval stage of Pseudoterranova decipiens (Nematoda, Anisakidae). Rev Saude Publica. 1997;31:178-81.
51. Oshima MT. Anisakiasis—is the sushi bar guilty? Parasitol Today. 1987;3:44-8.
52. Sohn WM, Seol SY. A human case of gastric anisakiasis by Pseudoterranova decipiens. Korean J. Parasitol. 1994;32:53-6.
53. Karl H. Nematode larvae in fish on the German market - 20 years of consumer related research. Arch Lebensmittelhyg. 2008;59,107-16.
54. Mladineo I. Anisakis simplex in the Adriatic Sea. Periodicum Biologorum. 2003;105:389-92.

55. Smith JW. The abundance of Anisakis simplex L3 in the body cavity and flesh of Marine teleosts. Int J Parasitol. 1984;14:491-5.
56. Abollo E, D'Amelio S, Pascual S. Fitness of the marine parasitic nematode Anisakis simplex s. str. in temperate waters of the NE Atlantic. Dis Aquat Organ. 2001;45:31-9.
57. Wharton DA, Hassall ML, Aalders O. Anisakis (Nematoda) in some New Zealand inshore fish. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research. 1999;33:643-48.
58. Valero A, Paniagua MI, Hierro I, Díaz V, Valderrama MJ, Benítez R. et al. Anisakid parasites of two forkbeards (Phycisblennoides and Phycisphycis) from the Mediterranean coasts of Andalucía (Southern Spain). Parasitol Int. 2006;55:1-5.
59. Rückert S, Klimpel S, Al-Quraishy S, Mehlhorn H, Palm HW. Transmission of fish parasites into grouper mariculture [Serranidae: Epinephelus coioides (Hamilton, 1822)] in Lampung Bay, Indonesia. Parasitol Res. 2008;104:1226-27.
60. Angot V, Brasseur P. European farmed Atlantic salmon (Salmosalar L.) are safe from anisakid larvae. Aquaculture. 1993;118:339-44.
61. Inoue K, Oshima S, Hirata T, Kimura I. Possibility of anisakid larvae infection in to farmed salmon. Fish Sci. 2000;66:1049-52.
61. Lunestad BT. Absence of nematodes in farmed Atlantic salmon (Salmosalar L.) in Norway. J Food Prot. 2003;66:122-4.
62. Marty GD. Anisakid larva in the viscera of a farmed Atlantic salmon (Salmosalar). Aquaculture. 2008;279:209-10.
63. Skov J, Kania PW, Olsen MM, Lauridsen JH, Buchmann K. Nematode infections of maricultured and wild fishes in Danish waters: A comparative study. Aquaculture. 2009;298:24-8.
64. Wooten R, Yoon GH, Bron JE. A Survey of Anisakid Nematodes in Scottish farmed salmon. FSAS Project S14008. 2009. Disponible en: http://foodbase.food.gov.uk//admintools/reportdocuments/355-1-616_S14008__extension__Survey_of_Anisakid_nematodes_FINAL_VERSION.pdf.

65. Peñalver J, Dolores EM, Muñoz P. Absence of Anisakidae larvae in farmed European sea bass (Dicentrarchuslabrax L.) and gilthead sea bream (Sparusaurata L.) in Southern Spain. J Food Protec. 2010;7:1332-4.
66. APROMAR. Evaluación de la presencia de nematodos del género Anisakis en los pescados de acuicultura marina españoles. Enero 2012. Disponible en: www.apromar.es.
67. Rello FJ, Adroher FJ, Benitez R, Valero A. The fishing area as a possible indicator of the infection by anisakids in anchovies (Engraulisencrasicolus) from southwestern Europe. Int J Food Microbiol. 2009;129:277-81.
68. Asaishi K, Nishino C, Ebata T, Totsuka M, Hayasaka H, Suzuki T. Studies on the etiologic mechanism of anisakiasis. --1. Immunological reactions of digestive tractinduced by Anisakis larva. Gastroenterol Jpn. 1980;15:120-7.
69. Alonso-Gómez A, Moreno-Ancillo A, López-Serrano MC, Suárez-de-Parga JM, Daschner A, Caballero MT. Anisakis simplex only provokes allergic symptoms when the worm parasitises the gastrointestinal tract. Parasitol Res. 2004;93:378-84.
70. Del Pozo MD, Audicana M, Díez JM, Muñoz D, Ansótegui IJ, Fernández E. Anisakis simplex, a relevant etiologic factor in acute urticaria. Allergy. 1997;52:576-9.
71. Fernández de Corres L, Del Pozo MD, Aizpuru F. Prevalencia de la sensibilización a Anisakis simplex en tres áreas españolas, en relación a las diferentes tasas de consumo de pescado. Relevancia de la alergia a Anisakis simplex. Rev Esp Alergol Inmunol Clín. 2001;16:337-46.
72. Muñoz Pereira M, San Martín M, Ornia N, Ortega N, Pascual C, Martín Esteban M. Incidencia de IgE específica frente a Anisakis simplex y Ascaris lumbricoides en población normal y atópica. Rev Esp Alergol Inmunol Clín. 1996;11:197-8.
73. López-Sáez MP, Zubeldia JM, Matheu V, Gracia MT, De Barrio M, Tornero P. Sensibilización a Anisakis simplex en una consulta de alergia hospitalaria de Madrid. Rev Esp Alergol Inmunol Clín. 1999;14:23.
74. Kimura S, Takagi Y, Gorni K. IgE response to Anisakis compared to seafood. Allergy. 1999;54:1225-6.

75. Lin AH, Nepstad I, Florvaag E, Egaas E, Van Do T. An extended study of seroprevalence of anti-Anisakis simplex IgE antibodies in Norwegian blood donors. Scandinavian J Immunol. 2014;79:61-7.
76. Audicana MT, Del MD, Daschner A. Anisakis simplex y alergia. En: Peláez A, Dávila I, editores. Tratado de Alergología de la SEAIC 2007. Tomo II. p. 1681-705.
77. Gamboa PM, Asturias J, Martínez R, Antepara I, Urrutia I, Fernández J, et al. Diagnostic utility of components in allergy to Anisakis simplex. J Invest Allergol Clin Immunol. 2012;22:13-9.
78. Girao I, Audicana MT, Alarcón E, Uriel, O, Longo, N, Fernández, E. Evolución temporal de casos de urticaria y anafilaxia por Anisakis sp en el HUA entre los años 2000 y 2011. J Investig Allergol Clin Immunol. 2012;22:252.
79. Kilimajer J, Alava C, La Rotta A, Rubio Perez M, Zubeldia J, Baeza M. Evolution of theprevalence of Anisakis simplex allergyaftertwelveyears. Allergy. 2009;64(Suppl.90):179-538.
80. Audicana M, Kennedy M. Anisakis simplex: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. Clin Microbiol Rev. 2008;21:360-79.
81. Ishikura H, Kikuchi K, Nagasawa K, Ooiwa T, Takamiya H, Sato N. Anisakidae and Anisakidosis. Prog Cin Parasitol. 1993;3:43-101.
82. Kim LS, Lee YH, Kim S, Park HR, Cho SY. A case of anisakiasis causing intestinal obstruction. Kisaengchunghak Capchi. 1991;29:93-6.
83. Fabresse FX, Essioux H, Merian M, Larouque P, Celton H. Polyathrite de l'anisakiase. Premier cas (letter). Presse Med. 1984;13:1004.
84. Arenal Vera JJ, Marcos Rodríguez JL, Borrego Pintado MH, Bowakin Dib W, Castro Lorenzo J, Blanco Álvarez JI. Anisakiasis as a cause of acute appendicitis and rheumatologic picture: the first case in medical literature. Rev Esp Enferm Dig. 1991; 79:355-8.
85. Ishikura H. Epidemiological aspects of intestinal anisakiasis and its pathogenesis. En: Ishikura H, Kikuchi K, editores. Intestinal anisakiasis in Japan. Infected fish, sero-immunological diagnosis, and prevention. Tokyo: Springer-Verlag; 1990. p. 3-21.

86. Kikuchi Y, Ishikura H, Kikuchi K. Pathology of intestinal anisakiasis. En: Ishikura H, Kikuchi K, editores. Intestinal anisakiasis in Japan. Infected fish, sero-immunological diagnosis, and prevention. Tokyo: Springer-Verlag; 1990. p. 129-43.
87. Deardorff TL, Overstreet RM. Seafood-transmitted zoonosesin the United States: the fishes, the dishes, and the worms. En: Ward DR, Hackney C, editores. Microbiology of marine food products. New York: Van Nostrand Reinhold; 1990. p. 211-65.
88. Canut A, Labora A, López de Torre J, Romeo JA. Anisakiosis gástrica aguda por cocción insuficiente en horno microondas. Medicina Clínica. 1996;8:317-8.
89. Daschner A, Alonso-Gómez A, Cabañas R, Suárez-de-Parga J, López-Serrano M. Gastroallergic anisakiasis: borderline between food allergy and parasitic disease-clinical and allergologic evaluation of 20 patients with confirmed acute parasitism by Anisakis simplex. J Allergy ClinImmunol. 2000;105:176-81.
90. Kasuya S, Koga K. Significance of detection of specific IgE in Anisakis-related diseases. Arerugi. 1992;41:106-10.
91. Daschner A, Cuellar C, Sánchez-Pastor S, Pascual CY, Martín-Esteban M. Gastro-allergic anisakiasis as a consequence of simultaneous primary and secondary immune response. Parasite Immunol. 2002;24:243-51.
92. Asaishi K, Nishino C, Ebata T, Totsuka M, Hayasaka H, Suzuki T. Studies on the etiologic mechanism of anisakiasis. -1. Immunological reactions of digestive tract induced by Anisakis larva. Gastroenterol Jpn. 1980;15:120-27.
93. González Quijada S, González Escudero R, Arias García L, Gil Martín A, Vicente Serrano J, Corral Fernández E. [Anisakiasis gastrointestinal manifestations: description of 42 cases]. Rev Clin Esp. 2005;205;311-5.
94. Pozio E. Epidemiology and control prospects of foodborne parasitic zoonoses in the European Union. Parassitologia. 2008;50:17-24.
95. Van Thiel P, van Houten H. [The herring worm Anisakis marina as a human parasiteoutside the wall of the gastrointestinal tract]. Ned Tijdschr Geneeskd. 1966;110:1524-8.

96. Falcao H, Lunet N, Neves E, Iglesias I, Barros H. Anisakis simplex as a risk factor for relapsing acute urticaria: a case-control study. J Epidemiol Community Health. 2008;62:634-7.
97. Anadón AM, Romarís F, Escalante M, Rodríguez E, Gárate T, Cuéllar C. The Anisakis simplex Ani s 7 major allergen as an indicator of true Anisakisinfections. Clin Exp Immunol. 2009;156:471-8.
98. Gómez-Aguado F, Picazo A, Caballero ML, Moneo I, Asturias JA, Corcuera MT, et al. Ultrastructural localization of Ani s 1, a major allergen from the fish parasite Anisakis simplex. Parasitol Res. 2003;89:379-80.
99. Sastre J, Lluch-Bernal M, Quirce S, Arrieta I, Lahoz C, Del Amo A, et al. A double-blind, placebo-controlled oral challenge study with lyophilized larvae and antigen of the fish parasite, Anisakis simplex. Allergy. 2000;55:560-4.
100. Kasuya S, Hamano H, Izumi S. Mackerel-induced urticaria and Anisakis. Lancet. 1990;335:665.
101. Audicana M, Fernández de Corres L, Muñoz D, Fernández E, Navarro J, del Pozo M. Recurrent anaphylaxis caused by Anisakis simplex parasitizing fish. J Allergy Clin Immunol. 1995;96:558-60.
102. AAITO_IFIACI Anisakis Consortium. Anisakis hypersensitivity in Italy: prevalence and clinical features: a multicenter study. Allergy. 2011;66:1563-9.
103. Audicana MT. Anisakis simplex y alergia alimentaria (tesis). Lejona, España Universidad del País Vasco (UPV); 2002.
104. Foti C, Fanelli M, Mastrandrea V, Buquicchio R, Cassano N, Conserva A, et al. Risk factors for sensitization to Anisakis simplex: a multivariate statistical evaluation. Int J Immunopathol Pharmacol. 2006;19:847-51.
105. Nakamura K, Inomata N, Ikezawa Z. Dramatic augmentation of wheat allergy by aspirin in a dose-dependent manner. Ann Allergy Asthma Immunol. 2006;97:712-3.
106. Moneret-Vautrin DA, Latarche C. Drugs as risk factors of food anaphylaxis in adults: a case –control study. Bull Acad Natl Med. 2009;193:351-62.
107. Wölbing F, Fischer J, Köberle M, Kaesler S, Biedermann T. About the role and underlying mechanisms of cofactors in anaphylaxis. Allergy. 2013;68:1085-92.

108. Martínez Arcediano A, Audicana M, Longo N, Fernández E, Villarreal O, Velasco M, et al. Allergy to galactose-alpha-1,3-galactose: clinical features and the diagnostic value of Cetuximab. J Investig Allergol Clin Immunol. 2014; 24:439-62.
109. Añibarro B, Seoane FJ, Múgica MV. Involvement of hiddenallergens on food allergic reactions. J Investig Allergol Clin Immunol. 2007;168-72.
110. Aly M, Safwat M, Mohamed M. Anisakis and fish induced urticaria. J Egypt Soc Parasitol. 2000;30:601-6.
111. Añíbarro B, Seoane FJ. Occupational conjunctivitis caused by sensitization to Anisakis simplex. J Allergy ClinImmunol. 1998;102:331-2.
112. Armentia A, Lombardero M, Callejo A, Martín Santos JM, Gil FJ, Vega J, et al. Occupational asthma by Anisakis simplex. J Allergy Clin Immunol. 1998;102:831-4.
113. Armentia A, Martín-Gil FJ, Pascual C, Martín-Esteban M, Callejo A, Martinez C. Anisakis simplex allergy after eating chicken meat. J Investig Allergol Clin Immunol. 2006;16:258-63.
114. Asero R, Antonicelli L, Arena A, Bommarito L, Caruso B, Colombo G, et al. Causes of food-induced anaphylaxis in Italian adults: a multi-centre study. Int Arch Allergy Immunol. 2009;150:271-7.
115. Carretero P, Blanco J, García F, Marcos M, Alonso L, Garces M, et al. Protein contact dermatitis caused by Anisakis simplex. Contact Dermatitis. 1997;37:247.
116. Choi SJ, Lee JC, Kim MJ, Hur GY, Shin SY, Park HS. The clinical characteristics of Anisakis allergy in Korea. Korean J Intern Med. 2009;24:160-3.
117. Cuende E, Audicana MT, García M, Anda M, Fernández Corres L, Jiménez C, et al. Rheumatic manifestations in the course of anaphylaxis caused by Anisakis simplex. Clin Exp Rheumatol. 1998;16:303-4.
118. Domínguez-Ortega J, Alonso-Llamazares A, Rodríguez L, Chamorro M, Robledo T, Bartolome JM, et al. Anaphylaxis due to hypersensitivity to Anisakis simplex. Int Arch Allergy Immunol. 2001;125:86-8.
119. García F, Blanco JG, Garcés M, Juste S, Fuentes M, Herrero D. Freezing protects against allergy to Anisakis simplex. J Investig Allergol Clin Immunol. 2001;11:49-52.

120. García-Bara MT, Matheu V, Zubeldia JM, Rubio M, Ordoqui E, López-Saez MP, et al. Anisakis simplex-sensitized patients: should fish be excluded from their diet? Ann Allergy Asthma Immunol. 2001;86:679-85.
121. Gómez B, Tabar AI, Tunon T, Larrinaga B, Álvarez MJ, García BE, et al. Eosinophilic gastroenteritis and Anisakis. Allergy. 1998;53:1148-54.
122. Kameyama R, Yagami A, Yamakita T, Nakagawa M, Nagase K, Ichikawa H, et al. [A case of immediate allergy to Anisakis following saury intake]. Arerugi. 2006;55:1429-32.
123. Foti C, Nettis E, Cassano N, Di Mundo I, Vena GA. Acute allergic reactions to Anisakis simplex after ingestion of anchovies. Acta Derm Venereol. 2002;82:121-3.
124. Mendizabal-Basagoiti L. [Hypersensitivity to Anisakis simplex: apropos of 36 cases]. Allerg Immunol (Paris). 1999;31:15-7.
125. Moreno-Ancillo A, Caballero MT, Cabanas R, Contreras J, Martín-Barroso JA, Barranco P, et al. Allergic reactions to Anisakis simplex parasitizing seafood. Ann Allergy Asthma Immunol. 1997;79:246-50.
126. Moro Moro M, Tejedor MA, Esteban J, Múgica MV, Rosado A, Vila C. Incidence of anaphylaxis and subtypes of anaphylaxis in a general hospital emergency department. J Investig Allergol Clin Immunol. 2011;21:142-9.
127. Fernández de Corres L, Audicana M, Del Pozo MD, Muñoz D, Fernández E, Navarro JA, et al. Anisakis simplex induces not only anisakiasis: report on 28 cases of allergy caused by this nematode. J Investig Allergol Clin Immunol. 1996;6:315-9.
128. Hoshino C, Narita M. Anisakis simplex induced anaphylaxis. J Infec Chemother. 2011; 17:544-6.
129. Nieuwenhuizen N, Lopata AL, Jeebhay MF, Herbert DR, Robins TG, Brombacher F. Exposure to the fish parasite Anisakis causes allergic airway hyperreactivityand dermatitis. J Allergy Clin Immunol. 2006;117:1098-105.
130. Pecquet C, Danis M, Leynadier F. Anisakis simplex and immediate hypersensitivityreactions. Ann Dermatol Venereol. 2002;129:303-5.
131. Purello-D'Ambrosio F, Pastorello E, Gangemi S, Lombardo G, Ricciardi L, Fogliani O, Merendino RA. Incidence of sensitivity to Anisakis simplex in

a risk population of fishermen/fishmongers. Ann Allergy Asthma Immunol. 2000;84:439-44.
132. Rosel Rioja L, del Pozo Gil MD, Lobera Labairu T, Ibarra Cucalón V, Blasco Sarramían A, Oteo Revuelta JA. [Allergy to Anisakis simplex. Report of 2 cases and review of the literature]. Rev Clin Esp. 1998;198:598-600.
133. Scala E, Giani M, Pirrotta L, Guerra EC, Cadoni S, Girardelli CR, et al. Occupational generalised urticaria and allergic airborne asthma due to Anisakis simplex. Eur J Dermatol. 2001;11:249-50.
134. Ventura MT, Tummolo RA, Di Leo E, D'Ersasmo M, Arsieni A. Immediate and cell-mediated reactions in parasitic infections by Anisakis simplex. J Investig Allergol ClinImmunol. 2008;18:253-59.
135. Barbarroja-Escudero J, Rodríguez-Rodríguez M, Sánchez-González MJ. Anisakis simplex a new etiological agent of Kounis syndrome. Int J Cardiol. 2013;167:187-9.
136. Gallo R, Cecchi F, Parodi A. Intractable chronic pruritus as the only manifestation of IgE hypersensitivity to Anisakis. J Am Acad Dermatol. 2012;67:e261.
137. Rodríguez-Mahillo AI, González-Muñoz M, Moneo I. Allergenic properties and cuticle microstructure of Anisakis simplex L3 after freezing and pepsin digestion J Food Prot. 2008;71:2578-81.
138. Solas MT, García ML, de las Heras C, Rodríguez-Mahillo AI, González Muñoz M, Moneo I, et al. Anisakis Simplex antigens in fresh and frozen-thawed muscle of anchovies in vinegar. Food Sci Technol Int. 2009;15:139-48.
139. Tejada M, Solas M, Navas A, Mendizábal A. Scanning Electron Microscopy of Anisakis Larvae following Different Treatments. J. Food Protect. 2006;69(6):1379-87.
140. Matínez F, Bueno A, Jiménez T, Santero MP, Arribas D, Martínez J. Acute abdomen caused by eosinophilic enteritis: six observations. Cir Cir. 2013;81:237-41.
141. Meseguer J, Navarro V, Sánchez-Guerrero I, Bartolomé B, Negro Álvarez JM. Anisakis simplex allergy and nephrotic syndrome. Allergol Immunopathol (Madr). 2007;35:216-20.

142. González de Olano D, De la Hoz B, Núñez R, Sánchez L, Cuevas A, Diéguez MC, et al. Prevalence of allergy and anaphylactic symptoms in 210 adult and pediatric patients with mastocytosis in Spain: a study of the Spanish network on mastocytosis (REMA). Clinical Exper Allergy. 2007;37:1547-55.
143. Olivares Ponce, FO. Efecto sobre los alérgenos de las larvas L3 de anisakis al aplicar tratamientos selectivos en pescado parasitado (tesis doctoral). Madrid: Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Veterinaria; 2012.
144. Lopata AL, Jeebhay MF. Airborne seafood allergens as a cause of occupational allergy and asthma. Curr Allergy Asthma Rep. 2013;13:288-97.
145. Nieuwenhuizen N, Herbert DR, Brombacher F, Lopata AL. Differential requirements for interleukin (IL)-4 an IL-13 in protein contact dermatitis induced by Anisakis. Allergy. 2009;64:1309-18.
147. Hernandez Bel P, de la Cuadra J, García R, Alergre V. Protein contact dermatitis: review of 27 cases. Actas Dermosifilog. 2011;102:336-43.
148. Pulido Z, González E, Alfaya T, de la Hoz B, Cuevas M. Unusual sensitization to Anisakis simplex. Allergy. 2000;55:586-7.
149. Cardona V, Luengo O, Garriga T, Labrador-Horrillo M, Sala-Cunill A, Izquierdo A, Soto L, Guilarte M. Co-factor-enhancedfoodallergy. Allergy. 2012;67:1316-8.
150. Matsuo H, Morimoto K, Akaki T, Kaneko S, Kusatake K, Kuroda T, et al. Exercise and aspirin increase levels of circulating gliadin peptides in patients with wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. Clin Exp Allergy. 2005;35(4):461-6.
151. Morita E, Kunie K, Matsuo H. Food-dependent exercise-induced anaphylaxis. J Dermatol Sci. 2007;47(2):109-17. Epub 2007 May 15.
152. Triggiani M, Montagni M, Parente R, Ridolo E. Anaphylaxis and cardiovascular diseases: a dangerous liaison. Curr Opin Allergy ClinImmunol. 2014;14:309-15.
153. Lee S, Hess EP, Nestler DM. Antihypertensive medication use is associated with increased organ system involvement and hospitalization in emergency department patients with anaphylaxis. J Allergy ClinImmunol. 2013;131:1103-8.

154. Hewitson JP, Grainger JR, Maizels RM. Helminth immunoregulation: the role ofparasite secreted proteins in modulating host immunity. Mol Biochem Parasitol. 2009; 167:1-11.
155. Vidacek S, de las Heras C, Solas MT, Mendizábal A, Rodríguez-Mahillo AI, González-Muñoz M, et al. Anisakis simplex allergens remain active after conventional or microwave heating and pepsin treatments of chilled and frozen L3 larvae. J Sci Food Agric. 2009;89:1997-2002.
156. Vidacek S, De las Heras C, Solas MT, Mendizábal A, Rodríguez-Mahillo AI, Tejada M. Antigenicity and Viability of Anisakis larvae heated at different time-temperature conditions. J Food Prot. 2010;73:62-8.
157. Daschner A, Vega de la Osada F, Pascual CY. Allergy and parasites reevaluated:wide-scale induction of chronic urticaria by the ubiquitous fish-nematode Anisakis simplex in an endemic region. Allergol Immunopathol (Madr). 2005;33;31-7.
158. López-Sáez MP, Zubeldia JM, Caloto M, Olalde S, Pelta R, Rubio M, et al. Is Anisakis simplex responsible for chronic urticaria? Allergy Asthma Proc. 2003;24(5):339-45.
159. www.allergen.org
160. Iglesias R, Leiro J, Ubeiran FM, Santamarina M T, Sanmartin ML. Anisakis simplex: antigen recognition and antibody production in experimentally infected mice. Parasite Immunol. 1993;15:243-50.
161. Baeza ML, Rodríguez A, Matheu V, Rubio M, Tornero P, de Barrio M, et al. Characterization of allergens secreted by Anisakis simplex parasite: clinical relevante in comparison with somatic allergens. Clin Exp Allergy. 2004;34:296-302.
162. Rodríguez-Mahillo AI, González-Muñoz M, de las Heras C, Tejada M, Moneo I. Quantification of Anisakis simplex allergens in fresh, long-term frozen, and cooked fish muscle. Foodborne Pathog Dis. 1993;7:967-73.
163. Lorenzo, S, Iglesias R, Audicana MT, García-Villaescusa R, Pardo F, Sanmartín ML, and UbeiraFM. Human immunoglobulin isotype profiles produced in response to antigens recognized by monoclonal antibodies specific to Anisakis simplex. Clin. Exp. Allergy 1999; 29:1095-101.

164. Cuéllar C, González-Fernández J, Rodero M, Valls A, de Frutos C, Daschner A, Nieuwenhuizen N. La hemoglobina de Anisakis simplex: factores que influyen sobre su reconcimiento. XVIII Congreso de la Sociedad Española de Parasitología. 2013. (abstract) http://www.allergen.org/viewallergen.
165. Kobayashi Y, Ohsaki K, Ikeda K, Kakemoto S, Ishizaki S, Shikamura K, et al. Identification of novel allergens from Anisakis simplex by chemiluminescent immunoscreening of an expression cDNA library. Parasitol International. 2012;60:144-50.
166. Caballero M, Umpierrez A, Moneo I, Rodríguez-Pérez R. Ani s 10, a new Anisakis simplex allergen: Cloning and heterologous expression. Parasitol Int. 2011;60:209-12.
167. Moneo I, Caballero M, Gómez F, Ortega E, Alonso M. Isolation and characterization of a major allergen from the fishparasite Anisakis simplex. J. Allergy Clin Immunol. 2000; 106:177-82.
168. Pérez-Pérez J, Fernández-Caldas E, Marañón F, Sastre J, Bernal M, Rodríguez J, et al. Molecular cloning of paramyosin, a new allergen of Anisakis simplex. Int Arch Allergy Immunol. 2000;123:120-9.
169. Asturias J, Eraso E, Martínez A. Cloning and high level expression in Escherichia coli of an Anisakis simplex tropomyosin isoform. Mol Biochem Parasitol. 2000;108:263-7.
170. Kobayashi Y, Shimakura K, Ishizaki S, Nagashima Y, Shiomi K. Purification and cDNA cloning of a new heat-stable allergen from Anisakis simplex. Mol Bioch Parasitol. 2007;155:138-45.
171. Lorenzo S, Iglesias R, Paniagua E, Leiro J, Ubeira F. Analysis of the antigenicity in mice of biotinyl enzymes from Anisakis simplex and other nematodes. Parasitol Res. 1999;85:441-5.
172. Rodríguez-Pérez R, Moneo I, Rodríguez-Mahillo A, Caballero M. Cloning and expression of Ani s 9, a new Anisakis simplex allergen. Mol Biochem Parasitol. 2008;159(2):92-7.
173. Caballero ML, Umpiérrez A, Pérez-Piñar T, Moneo I, de Burgos C, et al. Anisakis simplex recombinant allergens increase diagnosis specificity preserving high sensitivity. Int Arch Allergy Immunol. 2012;158:232-40. doi: 10.1159/000331581

174. Caballero M, Moneo I, Gómez-Aguado F, Corcuera M, Casado I, Rodríguez-Pérez R. Isolation of Ani s 5, an excretory-secretory and highly heat-resistant allergen useful for the diagnosis of Anisakis larvae sensitization. Parasitol Res. 2008;103:1231-3.
175. García-Mayoral MF, Treviño MA, Pérez-Piñar T, Caballero ML, Knaute T, Umpierrez A. Relationships between IgE/IgG4 epitopes, structure and function in anisakis simplex Ani s 5, a member of the SXP/RAL-2 protein family. PLoS Negl Trop Dis. 2014;8:e2735. doi:10.1371/journal.pntd.0002735
176. Rodríguez-Pérez R, Monsalve RI, Galán A, Pérez-Piñar T, Umpierrez A, Lluch-Bernal M, et al. Cross reactivity between Anisakis spp. and wasp venom allergens. Int Arch Allergy Immunol. 2014;163:179-84.
177. Iglesias R, Leiro J, Santamarina MT, Sanmartín ML, Ubeira FM. Monoclonal antibodies against diagnostic Anisakis simplex antigens. Parasitol Res. 1997;83:755-61.
178. Fæste CK, Jonscher KR, Dooper MMW, Egge-Jacobsen W, Moen A, Daschner A, et al. Characterisation of potential novel allergens in the fish parasite Anisakis simplex. 2014;140-55. Disponible en: http://www.elsevier.com/locate/euprot.
179. López I, Pardo MA. A phage display system for the identification of novel Anisakis simplex antigens. J Immunol Methods. 2011;373:247-51.
180. Ibarrola I, Arilla MC, Herrero MD, Esteban MI, Martínez A, Asturias JA. Expression of a recombinanty protein immunochemically equivalent to the major Anisakis simplex allergen Ani s 1. J Investig Allergol Clin Immunol. 2008;18:78-83.
181. Caballero ML, Asero R, Antonicelli L, Kambero E, Colangelo C, Fazii P. Anisakis allergy component-resolved diagnosis: clinical and immunologic differences between patients from Italy and Spain. Int Arch Allergy Immunol. 2013;162:39-44.
182. Hermoso de Mendoza IA, Sagasta J, Vuelta RV, Sanz González E, Larrañaga G, Martín M. Anisakis, el parásito de la urgencia. 14 Congreso de la Sociedad española de Diagnóstico por Imagen del Abdomen. Presentación electrónica educativa P0125. Disponible en: www.geyseco.es/se-

dia2014/comunicaciones_online/index.php?seccion=posters&idcomunicacion=18070.

183. Shibata E, Ueda T, Akaike G, Saida Y. CT findings of gastric and intestinal anisakiasis. Abdom Imaging. 2014;29:257-61.
184. Abe K, Yoshikai T, Baba S, Isoda T, Honda H. PET/CT Findings in acute gastric Anisakiasis. Clin Nucl Med. 2014; 36:e340-2.
185. Estrada JL, Gonzalo F. Sensitization to Anisakis simplex: an unusual presentation. Allergol Immunopathol. 1997;25:95-7.
186. Montoro A, Perteguer MJ, Chivato T, Laguna R, Cuellar C. Recidivous acute urticaria caused by Anisakis simplex. Allergy. 1997;52:985-91.
187. García M, Moneo I, Audicana M, Del Pozo MD, Muñoz D, Fernández E, et al. The use of IgE immunoblotting as a diagnostic tool in Anisakis simplex allergy. J Allergy Clin Immunol. 1997;99:497-501.
188. González-Muñoz M, Luque R, Nauwelaers F, Moneo I. Detection of anisakis simplex-induced basophil activation by flow cytometry. Cytometry B Clin Cytom. 2005;68B:31-6.
189. Baranda AB, Longo N, Moreno FJ, Uriel O, Audicana MT, Martínez de Marañón I. Novel methodology for rapid isolation and detection of Ani s 1, the main allergen of Anisakis simplex. International symposium of recente advances in food 2007. Disponible en: www. azti.es. www.ifi.csic.es/Memoria2007.pdf
190. Ramos L, Alonso C, Guilarte M, Vilaseca J, Santos J, Malagelada JR. Anisakis Simplex-induced small bowel obstruction after fish ingestion: Preliminary evidence for response to parenteral corticosteroids. Clin Gastroenterol Hepatol. 2005;3:667-71.
191. Kleter G, Prandini A, Filippi L, Marvin H. Identification of potentially emerging food safety issues by analysis of reports published by the European Community's Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) during a four-year period. Food Chem Toxicol. 2007;47:932-50.
192 Tejada M, López J. Evaluación de la presencia de Nematodos del género Anisakis en los pescados de acuicultura marina españoles. Informe Final, APROMAR. Ayuda para acciones colectivas de interés público. Secretaría

General del Mar. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. España; 2012. P. 42. Disponible en: http://www.apromar.es/Proyecto-Anisakis/APROMAR-Informe-ANISAKIS-2012.pdf

193. Shih H, Ku C, Wang C. Anisakis simplex (Nematoda: Anisakidae) third-stage larval infections of marine cage cultured cobia, Rachycentron canadum L., in Taiwan. Vet Parasitol. 1995;171(3-4):277-85.
194. Karl H, Roepstorff A, Huss H, Bloemsma B. Survival of Anisakis larvae in marinated herring fillets. Int J Food Sci Technol. 1995;29:661-70.
195. Sánchez-Monsálvez I, De Armas-Serra C, Martínez J, Dorado M, Sánchez A, Rodríguez-Cabeiro F. A New procedure for marinating fresh anchovies and ensuring the rapid destruction of Anisakis Larvae. J Food Protect. 2005;68(5):1066-72.
196. Bereciartua, J. Procedimiento para eliminar parásitos del pescado. Patente Nº ES 2 213 486 B1. Oficina Española de Patentes y Marcas, 2005.
197. Goto C, Kasuya S, Koga K, Ohtomo H, Kagei N. Lethal efficacy of extract from Zingiberofficinale (traditional Chinese medicine) or [6]-shogaol and [6]-gingerol in Anisakis larvae in vitro. Parasitol Res. 1990;76:653-6.
198. Hierro I, Valero A, Navarro MC. In vivo larvicidal activity of monoterpenic derivatives from aromatic plants against L3 larvae of Anisakis simplex s.l. Phytomedicine. 2006; 13:527-31.
199. Lin R, Chen C. Lee J, Lu C, Chung L, Yen C. Larvicidal constituents of Zingiber officinale (ginger) against Anisakis simplex. Planta Med. 2010;76:1852-8.
200. Navarro-Moll MC, Romero MC, Montilla MP, Valero A. In vitro and in vivo activity of three sesquiterpenes against L(3) larvae of Anisakis type I. Exp Parasitol. 2011;127(2):405-8. doi: 10.1016/j.exppara.2010.09.008. Epub 2010 Oct 20.
201. Hierro I, Valero A, Pérez P, González M, Cabo MM, Montilla MP, et al. Action of different monoterpenic compounds against Anisakis simplex s.l. L3 larvae. Phytomedicine. 2004;11:77-82.

10

AUTORA

María Teresa Audicana Berasategui

María Teresa Audicana Berasategui nació en Núremberg (Alemania) en 1961. Se licenció en medicina y cirugía por la Universidad del País Vasco en 1985, se especializó en Alergología e Inmunología Clínica por el sistema MIR en el Hospital Universitario Araba (Sede Santiago) en 1990 y se doctoró en medicina por la Universidad del País Vasco en 2002.

Desde 1991 y hasta enero de 1994 trabajó en el Hospital de Galdakao (Vizcaya) como facultativa especialista de área en Alergología. Desde enero de 1994 trabaja en el Hospital Universitario Araba (antigua Sede Santiago) como facultativa especialista de área en Alergología e Inmunología Clínica. El Servicio de Alergología atiende a toda la población de la comarca Araba, que incluye la población de la capital así como su área de influencia rural y el Alto Deva.

Su investigación comenzó en el seno del Servicio de Alergología del Hospital Santiago de Vitoria, en los proyectos de investigación subvencionados por agencias locales y estatales. Ha sido investigadora principal y colaboradora en varios proyectos de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC): Mapa epidemiológico en España Alergológica 1º y 2ª edición y Estudio nacional de prevalencia de alergia a *Anisakis*, entre otros. También ha sido investigadora principal y colaboradora en proyectos financiados por el Gobierno Vasco, FIS, Fundación de la SEAIC y Caja Vital. Ha colaborado en el desarrollo de técnicas de diagnóstico de diversas enfermedades alérgicas, principalmente alergia cutánea, y alergia grave a alimentos y medicamentos, como consecuencia directa de los proyectos de investigación. Es autora y coautora de cerca de 50 artículos publicados en revistas indexadas y ocho capítulos de un libro sobre temas de alergia a medicamentos, dermatitis alérgica de contacto, rinitis y asma, anafilaxia, alergia alimentaria y alergia a *A. simplex*. Ha presentado más de 100 *abstracts* a congresos nacionales e internacionales y ha impartido más de 50 conferencias nacionales e internacionales sobre diversos temas de alergia. Es referee de diversas revistas entre las que se encuentran: *The Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology, Trends in Parasitology, Acta Tropica, Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology, Journal of Diabetes and Its Complications, Clinical Infectious Diseases* y *Clinical and Experimental Allergy*.

La doctora Audicana fue miembro de la Comisión de Investigación del Hospital Santiago desde 2006 hasta 2012 y desde 2012 lo es de la Comisión de Investigación del Hospital Universitario Araba. Además, participa como miembro del Comité Ético de Investigación Clínica de Euskadi (CEICE) desde 2006 hasta la actualidad y también en el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Santiago (CEIC Santiago) desde 2005 hasta 2012 y del CEIC-Hospital Universitario Araba desde 2012 hasta la actualidad.

A nivel nacional es miembro del Comité de Alergia Medicamentosa de la Sociedad Española de Alergología (SEAIC) desde 2003 hasta la actualidad, donde tuvo el cargo de secretaria hasta 2011 y desde 2011 hasta la actualidad, el de vocal. Asimismo,es miembro del Comité de Alergia Infantil de la SEAIC desde 2011 hasta la actualidad, en el que es la responsable del área de alergia a medicamentos.

A su labor investigadora se une la de docente. Desde octubre de 1999 es tutora acreditada de Alergología y cuenta con un residente de alergología en formación por año, así como residentes procedentes de otros servicios de alergología y de otras especialidades, como Medicina familiar y comunitaria, Medicina interna, Respiratorio, Pediatría y Dermatología, entre otros. Desde 2011 es profesora asociada de la Facultad de Medicina del País Vasco, y está acreditada por la agencia UNIQUAL. Además, ha contribuido a la formación práctica de estudiantes de medicina y nutrición.

La doctora Audicana ha participado como delegada española ante la Unión Europea del proyecto European Union Reference Laboratory for Parasites en 2011. Desde 2007 ha colaborado con el Comité Científico de Seguridad Alimentaria de la Comunidad Autónoma del País Vasco (ELIKA) en la evaluación y control de *Anisakis*. Desde 2010 es miembro asesor de la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) en relación con riesgos de los parásitos en pescados y mariscos.

Su principal línea de investigación es la alergia a alimentos, alergia a *Anisakis simplex* y alergia a medicamentos, métodos diagnósticos, consecuencias inmunológicas y tratamiento. Asimismo, en su servicio se prioriza la línea de investigación en aeroalérgenos, anafilaxia, alergia cutánea, dermatitis alérgica de contacto y asma ocupacional como líneas clave. Actualmente, como miembro de BioAraba se encarga de colaborar en el desarrollo del Instituto de Investigación de Álava en sus aspectos docentes e investigadores.

11

NOTAS

11. NOTAS

11. NOTAS