

***Anisakis* y alergia**

María del Carmen Cuéllar del Hoyo

Departamento de Parasitología. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid

1.- Introducción

Los anisákidos son nematodos incluidos en la Clase Chromadorea, Orden Rhabditida, Suborden Rhabditina, Infraorden Ascaridomorpha, Superfamilia Ascaridoidea, Familia Anisakidae (De Ley, 2006; Blaxter, 2009). Dentro del género *Anisakis* se admiten al menos nueve especies, estando las más estudiadas incluidas dentro del complejo *Anisakis simplex* (Tabla 1) (Mattiucci y Nascetti, 2008; Mattiucci *et al.*, 2009).

1.1.- Ciclo biológico

Los anisákidos adultos viven en el estómago de los mamíferos marinos eliminando huevos que se embrionan en el medio externo. Las larvas de primer estadio mudan a larvas de segundo estadio que, tras la eclosión, serán ingeridas por los hospedadores intermediarios, que son pequeños crustáceos planctónicos, donde mudan a larvas de tercer estadio, las cuales ya son infectantes para los hospedadores definitivos. Los peces y cefalópodos que intervienen en estas cadenas alimentarias actúan como hospedadores paraténicos, acumulando larvas infectantes y facilitando la llegada de éstas a los hospedadores definitivos (Figura 1).

1.2.- Distribución geográfica

Los anisákidos tienen distribución cosmopolita derivada de los hábitats de sus hospedadores, dándose la paradoja de que un ecosistema marino sano es aquel que presenta un alto nivel de infecciones por estos nematodos. En el caso del género *Anisakis* los hospedadores definitivos son los cetáceos como rorcuales, orcas, delfines, belugas o marsopas, mientras que peces y cefalópodos actúan como hospedadores paraténicos (Mattiucci y Nascetti, 2008).

1.3.- Localización larvaria

Las larvas de tercer estadio se encuentran en la cavidad abdominal de los pescados, enrolladas en espiral y rodeadas de una cápsula y, al morir estos, comienzan una migración abdomino-muscular acumulándose en la musculatura.

1.4.- Morfología larvaria

La especie *A. simplex*, principal implicada en los procesos patológicos humanos, es de color blanquecino y mide entre 1 y 3 cm. Se caracteriza por presentar una boca típica de ascárido con un diente asimétrico. El esófago carece de apéndices ventriculares y el intestino de ciegos. El extremo posterior presenta mucro.

1.5.- Riesgo por la presencia de las larvas en los productos de la pesca

Según el informe elaborado por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2010), todos los pescados destinados al consumo humano están potencialmente parasitados, alcanzando tasas cercanas al 100% en muchos casos (Tabla 2). El informe recoge, asimismo, los efectos que los diferentes tratamientos culinarios producen sobre la viabilidad de las larvas, observando que la congelación y el calentamiento son los únicos eficaces en conseguir su eliminación (Tabla 3) (EFSA, 2010).

Respecto al posible riesgo de parasitación de pescados de acuicultura, el informe de la EFSA no es concluyente ya que solo existen datos en el caso del salmón. A pesar de ello, la agencia alerta de un posible riesgo cuando los ejemplares son alimentados con comida fresca no procesada o cuando se capturan larvas o ejemplares jóvenes para engordarlos posteriormente en cautividad (EFSA, 2010). En España concretamente no existe ningún riesgo ya que, en un estudio encargado por la Asociación Empresarial de Productores de Cultivos Marinos, se evaluaron 1000 ejemplares de dorada, lubina, rodaballo y corvina procedentes de 45 granjas y no se observó presencia de larvas de tercer estadio de *Anisakis* en ninguno de los ejemplares (APROMAR, 2012).

1.6.- Co-evolución parásito-hospedador

La filogenia de los parásitos se mira al espejo de la de sus hospedadores. La especiación del género *Anisakis* se habría producido por aislamiento geográfico de sus hospedadores y adaptación de poblaciones de parásitos ligeramente genéticamente diferentes a sus progenitores. Esto pudo ocurrir en varios tiempos durante el Mioceno, Plioceno y Pleistoceno, cuando las variaciones climáticas eran más extremas. En esos momentos las poblaciones de hospedadores y sus parásitos habrían permanecido aisladas en pequeños refugios marinos sufriendo procesos de co-adaptación. Después, en los periodos interglaciares, se habrían ido expandiendo según lo hubieran hecho sus hospedadores (Mattiucci y Nascetti, 2008).

¿De dónde vienen los hospedadores? Los cetáceos evolucionaron a partir de un grupo de ungulados y están emparentados directamente con los hipopótamos. Surgieron a partir de un cetáceo anfibio extinto hace unos 45 millones de años llamado *Pakicetus*. Esto quiere decir que volvieron de la tierra al mar, llevándose los precursores de los anisákidos adquiridos previamente en las etapas terrestres (https://es.wikipedia.org/wiki/Evoluci%C3%B3n_de_los_cet%C3%A1ceos).

¿De dónde vienen los parásitos? Los nematodos están incluidos en los Ecdysozoa un grupo de invertebrados que mudan junto a los artrópodos. Actualmente existen muchos ejemplos de Ecdysozoa, además de los nematodos, como son los tardígrados y los onicóforos, existiendo numerosos registros fósiles de estos grupos afines (Edgecombe, 2009). Mediante el análisis filogenético utilizando el estudio del ARNr 18S se agrupa a los nematodos en un taxón hermano a los artrópodos que presenta gran similitud a nivel del género *Trichinella* (Aguinaldo *et al.*, 1997), habiéndose encontrado evidencias de que los nematodos parásitos ya existían hace millones de años (<http://phys.org/news/2011-04-outlines-mysterious-evolution-nematodes-.html#jCp>) (<http://tolweb.org/>).

¿De dónde vienen los anisákidos? De los ascáridos. De *Ascaris*. De hecho, éste es el único que completa el ciclo biológico en el hombre y por eso será el mejor adaptado y el que ha convivido más tiempo con él (Blaxter *et al.*, 1998). Pero además de

la especie *Ascaris lumbricoides* del hombre, está la especie reconocida tradicionalmente *Ascaris suum* del cerdo. ¿De dónde han venido? ¿Qué relación hay entre ellas? Loreille y Bouchet (2003) han analizado la evolución de la ascariosis en hombres y cerdos, concluyendo que, ya que los cerdos comen heces humanas y los humanos no comen heces porcinas, los homínidos fueron los hospedadores ancestrales a partir de los que posteriormente se infectaron los cerdos. Para este análisis se basan en las siguientes premisas: Los ancestros de los cerdos domésticos datan del Mioceno. En cuevas y rocas del Oeste de Europa hay pinturas de escenas de caza de jabalí de hace 25.000. Los cerdos domésticos descienden todos de una única especie de jabalí euroasiático (*Sus scrofa*). Su domesticación probablemente ocurrió hace 9.000 años en Oriente Medio y en el Este del Mediterráneo, así como en el Sudeste Asiático. Los cerdos domesticados se expandieron a través de Asia, Europa y África. Los huevos de *Ascaris* más antiguos tienen unos 30.000 años (Paleolítico Superior, Arcy-sur-Cure, Yonne, Francia) y no se encontraron restos de cerdos en el yacimiento.

Leles *et al.* (2012) se plantearon también si se deben mantener las dos especies como válidas o es una sola, generando las siguientes cuestiones: ¿*A. lumbricoides* (hombre) y *A. suum* (cerdo) son especies válidas originadas a partir de un ancestro común? ¿*A. lumbricoides* deriva de *A. suum*? ¿*A. suum* deriva de *A. lumbricoides*? ¿*A. lumbricoides* y *A. suum* son co-específicas? Finalmente, se decantan por esta última hipótesis, afirmando que *A. lumbricoides* y *A. suum* son co-específicas, para lo que se apoyan en los siguientes hechos: Los humanos y los cerdos aparecen como especies millones de años antes de la domesticación de los cerdos. Los primates y los cerdos salvajes ocuparon los mismos ecosistemas favoreciendo el intercambio de sus parásitos. Los humanos cazaban cerdos salvajes antes de la domesticación del cerdo. La domesticación favoreció el contacto y el intercambio de *Ascaris* de origen humano y porcino adaptándose a ambos hospedadores.

Ascaris es un parásito muy bien adaptado al hombre. *A. lumbricoides* puede vivir entre uno y dos años. Su elevada prevalencia es debida a dos razones: 1) La hembra tiene una elevada capacidad reproductora. Una sola puede producir hasta 27 millones de huevos en el curso de la infección. 2) Los huevos de *A. lumbricoides* pueden sobrevivir en condiciones ambientales extremas durante largos periodos de tiempo. La mayoría de las infecciones son ligeras y asintomáticas, aunque las infecciones masivas son patógenas por su gran tamaño (15-45 cm de longitud x 2-6 mm de diámetro) (Ojha *et al.*, 2014).

Respecto a desde cuando se tiene constancia de parásitos adquiridos por consumo de pescado hay pocas fuentes documentales. Según Zugarramurdi *et al.* (1998) el primer registro del pescado como alimento de la especie *Homo sapiens* tiene 380.000 años. Respecto a *Homo erectus*, Zohar y Briton (2011), en sus investigaciones realizadas en Gesher Benot Ya'aqov, un yacimiento israelí que arroja una datación de 780.000 años, encontraron dientes de un ciprínido. Este hallazgo, por el momento, está considerado como la más antigua evidencia del consumo de pescado en la prehistoria.

Muchos investigadores se preguntan que, ya que llevamos tanto tiempo con ellos, ¿para qué nos sirven?, planteado la “Hipótesis de los Helmintos” que se basa en los siguientes hechos: La coexistencia de los helmintos parásitos en el cuerpo humano a través de la evolución humana ha producido la selección de un sistema inmunológico adaptado a los helmintos que incluye la producción de IgE (Fumagalli *et al.*, 2009). Las

medidas sanitarias para reducir las infecciones helmínticas han alterado nuestra inmunología y, consecuentemente, los niveles de IgE, producidos por la estimulación por los helmintos, de los humanos modernos han caído. La ausencia de estimulación de la producción de IgE por los helmintos ha aumentado la vulnerabilidad frente a enfermedades infecciosas, alergias y enfermedades autoinmunes (Yazdanbakhsh *et al.*, 2002; Rook, 2009; Allen y Maizels, 2011).

Pero otros investigadores se plantean si son realmente ciertas esas hipótesis exponiendo las siguientes cuestiones: ¿La tasa de IgE es proporcional a la carga parasitaria? ¿Hay suficientes evidencias que demuestren la co-evolución entre humanos y helmintos? ¿Fueron los helmintos responsables de esa presión selectiva para el funcionamiento del sistema inmunológico? ¿Los niveles elevados de IgE producidos por selección natural supusieron una ventaja dietética? ¿Los niveles elevados de IgE pudieron permitir a los cazadores-recolectores consumir una gran variedad de plantas que de otra manera resultarían tóxicas? (London y Hruschka, 2014). Caraballo y Acevedo (2011) al estudiar el impacto de las infecciones por *A. lumbricoides* sobre la alergia en regiones tropicales plantean nuevas dudas acerca de las posibles relaciones entre los helmintos y el sistema inmunológico: ¿Las infecciones crónicas con cargas parasitarias altas producen inmunosupresión? ¿Las infecciones intermitentes con cargas parasitarias bajas estimulan la producción de IgE? ¿La ausencia de infección significa ausencia de inmuno-regulación?

Resulta evidente que, como consecuencia de esta adaptación, los helmintos pueden modular la respuesta inmunológica de sus hospedadores actuando sobre las células de la inmunidad innata, inhibiendo la producción de mediadores inflamatorios y favoreciendo la liberación de citoquinas inmuno-reguladoras, como IL-10 o TGF- β , lo que tiene como consecuencia la generación de linfocitos T reguladores, la expansión de linfocitos Th2 y la modulación negativa de los clones de linfocitos T de fenotipo pro-inflamatorio. Esto, indirectamente, puede tener como consecuencia la mejoría de las afecciones autoinmunes, así como, la prevención del desarrollo de alergias (Figura 2). La mejor comprensión de los mecanismos inflamatorios ha dado lugar a un nuevo paradigma en la inmunidad frente a los helmintos. Se ha demostrado que los helmintos actúan sobre los epitelios, causando la liberación de unas citoquinas, denominadas “alarminas”, como IL-25, IL-33 y linfopoyetina estromal tímica, que inducen células de la inmunidad innata de tipo 2 que producen IL-4, IL-5 e IL-13 y estimulan respuestas Th2. También se generan linfocitos B reguladores que producen IL-10 además de los linfocitos T reguladores. Estos mecanismos deprimen las células Th1 y Th17 que están implicadas en la respuesta inflamatoria inicial. Todos estos efectos se producen en el contexto de una predisposición genética, donde los helmintos pueden alterar la respuesta inmune, a través de la regulación evolutiva del “immunoma”, así como la regulación epigenética en etapas clave del desarrollo, como en el periodo intrauterino y en la primera infancia (Khan y Fallon, 2013; Wammes *et al.*, 2014).

Finalmente, aplicando las leyes de la biología evolutiva a *Anisakis*, la elevada prevalencia de enfermedades alérgicas clínicamente subsecuentes al parasitismo por este nematodo se podría atribuir al hecho de que el ser humano no es un hospedador natural de este parásito, y que el parasitismo por *Anisakis* es sólo agudo o “intermitente” y, por lo tanto, carece de las características inmuno-reguladoras típicas de las helmintosis crónicas, incluso se ha propuesto que la urticaria podría ser el resultado clínico exagerado de un mecanismo inmunológico beneficioso conservado

evolutivamente y que permite la eliminación de las larvas a las pocas horas de la ingestión del pescado parasitado (Daschner y Cuéllar, 2010).

Otros diferentes helmintos parásitos pueden tener diversos efectos sobre la alergia, sobre todo cuando la exposición es limitada o en el caso de helmintosis zoonóticas, en las que las larvas no pueden alcanzar el estadio adulto en el hospedador humano, migrando durante periodos prolongados en los tejidos. En otros casos, la falta de adaptación al hospedador humano tiene como consecuencia reacciones violentas por parte de éste que, en algunos casos, desencadenan reacciones alérgicas de tipo agudo. Por el contrario, en otros casos la presencia de algunos helmintos parásitos se ha relacionado con una menor prevalencia de asma como es el caso de *Necator americanus* y *Schistosoma mansoni*. Hay cuatro factores que pueden determinar los efectos de los helmintos sobre la alergia que son: el tiempo y duración de la infección, donde las infecciones tardías y cortas pueden incrementar las alergias; la intensidad de la infección, donde las infecciones leves tienen efectos negativos sobre la alergia; la genética del hospedador, donde los individuos genéticamente susceptibles a las enfermedades atópicas serán más proclives a desarrollar respuestas alérgicas frente a helmintos y otros alérgenos no parasitarios siendo más resistentes a las infecciones y, finalmente, el propio parásito. Los individuos expuestos a infecciones por helmintos pueden desarrollar respuestas inflamatorias a los parásitos y sus antígenos siendo lo más probable que esta respuesta del hospedador aisle y mate el parásito (Cooper, 2009).

Actualmente, *Anisakis* es el único helminto parásito que se acepta que está verdaderamente implicado en la aparición de enfermedades alérgicas asociadas a la parasitación.

1.7.- Anisakiosis

La anisakiosis se produce tras la ingestión de las larvas vivas de tercer estadio y según la localización de las lesiones se puede considerar gástrica, intestinal o ectópica. Cuando se manifiestan síntomas alérgicos acompañado a las manifestaciones digestivas se considera anisakiosis gastro-alérgica (Sakanari, 1990; Daschner *et al.*, 2000) (Figura 3).

2.- Anisakis y alergia

2.1.- Implicación de larvas vivas o muertas

En 2002 se abrió el debate sobre si las larvas de tercer estadio de *Anisakis* tenían que estar vivas para producir los síntomas alérgicos (Audicana *et al.*, 2002).

A pesar de que ningún estudio hasta la fecha ha confirmado científicamente que los materiales procedentes de las larvas no viables de *Anisakis* sean capaces de inducir reacciones alérgicas agudas en el ser humano, hay gran cantidad de publicaciones científicas que enfocan *a priori* la alergia a *Anisakis* como si se tratara de un alérgeno alimentario, tratando de implicarlo, incluso, como causa de alergia ocupacional (Rodríguez-Mahillo *et al.*, 2008; 2010; Vidacek *et al.*, 2010; López y Pardo, 2010; Mossali *et al.*, 2010; Nieuwenhuizen *et al.*, 2006; Añibarro y Seoane, 1998; Armentia *et al.*, 1998; Barbuzza *et al.*, 2009).

Por ello es necesario analizar la relación entre los parásitos y las alergias para mejorar nuestra comprensión de la alergia a *Anisakis* y el papel de la IgE en esta parasitosis, lo que nos ayudará también a analizar de forma crítica cuestiones asociadas como las definiciones de alérgeno y alérgeno principal en el campo de la parasitología (Daschner *et al.*, 2012).

Según el informe elaborado por la EFSA, *Anisakis* es el único parásito de los productos de la pesca implicado en reacciones alérgicas (EFSA, 2010), incluyéndose también como factor etiológico en las directrices para la evaluación de la anafilaxia (Simons *et al.*, 2011).

La alergia a *A. simplex* fue descrita por primera vez en Japón en 1990 (Kasuya *et al.*, 1990), pero el auge de las publicaciones en el campo de la alergia frente a dicho parásito se inició tras la descripción en España de nuevos casos de anafilaxia inducida por *A. simplex* en 1995 (Audicana *et al.*, 1995). Se demostró que los pacientes con síntomas alérgicos agudos tras el consumo de pescado parasitado mostraban IgE específica frente a este nematodo parásito y, por ello, desde entonces se le ha considerado como un potencial alérgeno y muchas investigaciones se han llevado a cabo siguiendo un protocolo clásico de alergia a alimentos empezando por la detección y caracterización de alérgenos (Daschner *et al.*, 2012).

En el caso de *A. simplex* se han caracterizado varios alérgenos (Tabla 4) y algunos de ellos han sido denominados alérgenos principales y/o panalérgenos, los cuales podrían ser causantes de la aparición de reacciones cruzadas, provocando la aparición de falsos positivos en el diagnóstico. Con respecto a esta supuesta reactividad cruzada, varios estudios han demostrado, por diferentes medios, posibles reacciones cruzadas debidas a hidratos de carbono o residuos de fosforil-colina con otros anisákidos como *Hystherothylacium*, hecho observado mediante ELISA de inhibición utilizando sueros de pacientes sensibilizados a *Anisakis* (Fernández-Caldas *et al.*, 1998). También se ha estudiado la aparición de reacciones cruzadas con otros ascáridos, como *Toxocara canis*, mediante la determinación de IgE anti-*Anisakis* y anti-*Toxocara* mediante *CAP System* en sueros de pacientes diagnosticados de urticaria aguda recidivante relacionada con *Anisakis* y larva migratoria visceral por *Toxocara* (Perteguer *et al.*, 2003). Aparte de las reacciones cruzadas con nematodos cercanos, también se han investigado estas reacciones con artrópodos, entre ellos ácaros, como *Acarus siro*, *Lepidoglyphus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae* o *Dermatophagoides pteronyssinus*, además de frente a cucarachas o crustáceos, así como lombrices de tierra (Johansson *et al.*, 2001).

Esta circunstancia ha llevado a varios autores a indicar que la reactividad cruzada es responsable de la aparición de “falsos positivos” cuando se detecta IgE específica en sujetos sin antecedentes clínicos de alergia a *Anisakis*. Sin embargo, utilizando métodos de elevada especificidad como la técnica de ELISA-UA3, se ha demostrado que la detección de IgE específica en población sana, es debida a anteriores episodios de parasitación por *A. simplex* dadas las elevadas tasas de parasitación en los pescados que se consumen en nuestro entorno, no observándose reacción cruzada con sueros de pacientes alérgicos a ácaros o pólenes. Se demostró que la elevada seroprevalencia de la anisakiosis en Madrid, más del 12% en población sana, está relacionada con los hábitos de consumo de pescado. La seropositividad fue más prevalente entre los consumidores de pescado fresco aumentando con la frecuencia de

consumo. Todos los sujetos seropositivos eran consumidores habituales de pescado crudo en distintas preparaciones como boquerones en vinagre, ahumados o marinados. También se observó relación entre la seropositividad y la utilización de métodos culinarios que no garantizan la muerte de las larvas como el microondas o el rebozado (Puente *et al.*, 2008). Todos estos hechos sugieren que la infección con las larvas vivas es necesaria para la seropositividad.

Además, varios estudios clínicos han demostrado que los síntomas agudos alérgicos tales como urticaria, angioedema o anafilaxia se producen sólo cuando las larvas vivas de *A. simplex* parasitan el tracto gastro-intestinal causando anisakiosis gastro-alérgica (Alonso *et al.*, 1997; Daschner *et al.*, 2000).

Basándose en estos hechos, las normas para la prevención de la parasitación por *Anisakis* consisten simplemente en evitar la ingestión de pescados que puedan contener larvas vivas. En general se recomienda consumir los pescados bien cocinados (> de 60°C) y si van a ser consumidos crudos y/o ahumados seguir la normativa europea de congelar previamente el pescado a -20°C durante un período mínimo de uno a siete días. En el año 2006, en España se publicó un Real Decreto 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. Todos estos datos tienen como consecuencia la falta de necesidad de que estos pacientes tengan que seguir una dieta estricta exenta de pescado ya que la congelación del pescado a -20°C durante un periodo mínimo de 24 horas mata las larvas de *Anisakis*. Este sencillo consejo dietético evita que los pacientes previamente diagnosticados de anisakiosis gastro-alérgica sufran posteriores reacciones alérgicas asociadas a *A. simplex* (Reglamento CE 853/2004; Real Decreto 1420/2006).

A pesar de que se han descrito reacciones alérgicas, incluyendo anafilaxis, después de la ingesta de pescados supuestamente bien cocinados, siendo atribuidas al contacto con alérgenos procedentes de larvas de *Anisakis* no viables (Audicana y Kennedy, 2008), el concepto de anisakiosis gastro-alérgica implica que la reacción de hipersensibilidad clínica se produce por la respuesta inmunitaria inducida tras el parasitismo agudo por *A. simplex*, siendo importante resaltar que no existen datos que hayan demostrado ningún resultado positivo con pruebas de provocación utilizando material procedente de larvas de *A. simplex* no viables (Alonso *et al.*, 1999; Daschner *et al.*, 2000; 2001; Sastre *et al.*, 2000; Baeza *et al.*, 2004), lo que confirma que las larvas tienen que ser ingeridas vivas para producir los síntomas asociados con la parasitación y la reacción de hipersensibilidad de tipo I asociada a la misma.

2.2.- Papel de la IgE anti-*Anisakis* en la reacción alérgica

Hemos dicho que la mayoría de las investigaciones en torno a *A. simplex* se han llevado a cabo siguiendo protocolos clásicos de estudio de alérgenos alimentarios. El modelo clásico de alergia a los alimentos (Shakib *et al.*, 2008) se basa en que la IgE, producida como consecuencia al estímulo alérgico y que es retenida por los receptores de alta afinidad FcεRI de los mastocitos, reconoce el alérgeno en sucesivos contactos lo que provoca la degranulación de los mastocitos en los tejidos, provocando los típicos síntomas de la hipersensibilidad de tipo I, tales como los que se ven en la alergia a alimentos y también en la anisakiosis gastro-alérgica. Esto se puede comprobar porque la IgE específica producida en ambos casos (alergia alimentaria o alergia a

Anisakis) puede ser detectada por una prueba cutánea (*Skin Prick Test*) y también se puede medir en el suero de los pacientes (Daschner *et al.*, 2001). Los primeros estudios realizados en Japón sobre la anisakiosis gástrica o intestinal demostraron que la IgE específica se produce siempre, incluso en pacientes sin síntomas de alergia clínicamente evidente (Asaishi *et al.*, 1980). Pero, por otro lado, el dolor epigástrico que sufren los pacientes con anisakiosis gástrica se ha postulado que se correlaciona con una reacción alérgica (Ashaishi *et al.*, 1980).

Se ha demostrado que los pacientes con anisakiosis gastro-alérgica muestran una estimulación policlonal dinámica después del contacto con los parásitos. La IgE específica aumenta después de un mes para luego descender lentamente a los seis meses o un año del contacto con los parásitos y los estudios mediante *western-blot* demuestran que se producen nuevas especificidades de la IgE, aumentando el reconocimiento de proteínas sobre los extractos crudos larvarios, así como sobre los productos de excreción-secreción (Daschner *et al.*, 2002). Pero la IgE no es el único isotipo de inmunoglobulina que se produce, sino que también pueden ser detectadas IgG, IgG4, IgA e IgM frente a *A. simplex* en el suero de pacientes con anisakiosis gastro-alérgica (Daschner *et al.*, 2002). En conclusión, la anisakiosis se puede considerar una entidad intermedia entre la alergia y el parasitismo (Daschner *et al.*, 2012).

En la anisakiosis la sensibilización temprana se tiene que producir cuando la larva viva de tercer estadio de *A. simplex* intenta penetrar en la mucosa gastro-intestinal y, dentro de un ambiente de polarización Th2, finalmente se produce la IgE específica frente a los productos de excreción-secreción así como frente a los antígenos de superficie o somáticos. Esto se traduce en la presencia de IgE circulante, así como de IgE unida al receptor de alta afinidad FcεRI de los mastocitos localizados, no solamente a nivel de la submucosa, sino también en otros órganos diana, tales como la piel. La existencia de mastocitos sensibilizados después de un episodio de parasitación previa se puede demostrar mediante la observación de resultados positivos en las pruebas cutáneas. Si posteriormente la larva viva de tercer estadio penetra el epitelio gástrico en un nuevo episodio después de la sensibilización, las proteasas producidas por el parásito, junto con otros productos de excreción-secreción, ayudarán a la larva a migrar a través del epitelio y a evadir distintos mecanismos de la respuesta inmune, por ejemplo, la acción protectora de la IgA secretora podría ser anulada por las cantidades masivas de productos de excreción-secreción que tienen acceso a la sub-mucosa los cuales, posteriormente, podrían llegar también a los órganos diana, tales como la piel, a través de la circulación. Algunos de estos productos de excreción-secreción son moléculas de naturaleza alérgica, que se pueden unir a las moléculas de IgE que se encuentran en las membranas de los mastocitos, produciendo el entrecruzamiento de las moléculas de los receptores FcεRI y, consecuentemente, producen la activación y degranulación de estas células y la liberación de histamina. También se liberarán otros mediadores y citoquinas y comenzará una serie de eventos que conducen a una respuesta inflamatoria local en los casos de anisakiosis gástrica que pueden ir acompañados de síntomas alérgicos, como son la urticaria o la anafilaxia, en pacientes susceptibles apareciendo los cuadros típicos de anisakiosis gastro-alérgica. Hay que señalar que, en determinados individuos, en los que no se han manifestado estos síntomas agudos, pueden aparecer manifestaciones urticariales crónicas asociadas a la sensibilización al parásito (Figura 4).

Los síntomas de la alergia aguda aparecen sólo en el contexto del parasitismo agudo cuando alguno de los productos de excreción-secreción se secreta activamente a la sub-mucosa cuando la larva penetra en el tracto gastrointestinal. El alérgeno *Ani s 7* es una proteína de excreción-secreción producida activamente por las larvas de tercer estadio de *A. simplex* durante la fase aguda de la infección (Anadón *et al.*, 2009) y, aunque casi el 100% de los pacientes de anisakiosis gastro-alérgica presentan anticuerpos IgE frente a este alérgeno, todos toleran la ingesta de pescado bien cocinado, a diferencia de lo que ocurre en las alergias de tipo alimentario (Cuéllar *et al.*, 2012).

¿Por qué estos pacientes podrían haber desarrollado esta tolerancia? En sucesivos contactos con los antígenos larvarios, los factores de protección podrían impedir que los mastocitos sensibilizados de la sub-mucosa y de otros órganos diana entren en contacto con los alérgenos. Estos factores podrían incluir IgA secretora, IgA circulante o tisular o IgG4, que compiten por los alérgenos, o factores inmunomoduladores secretados por las larvas de *A. simplex* al igual que ocurre en otras helmintosis (Daschner *et al.*, 2012).

Es posible que las larvas de *Anisakis* hayan desarrollado mecanismos de evasión de la respuesta inmunológica en su propio beneficio, como por ejemplo, la capacidad de suprimir respuestas Th1, que se demuestra por su capacidad para inhibir la producción de óxido nítrico por macrófagos activados (Cuéllar *et al.* 1998); habiéndose también confirmado su potencial anti-inflamatorio por la presencia de moléculas tipo-IL-4 (Cuéllar *et al.* 2001) y por su actividad inmunomoduladora sobre el sistema del complemento (García-Hernández *et al.*, 2007; 2009; 2012). En ratones experimentalmente infectados se ha observado que la inyección previa de antígeno inhibe los procesos inflamatorios inducidos por las larvas vivas. Esta inyección previa también provocó una reducción significativa de las células CD45+ y CD8+ y también del porcentaje de proliferación celular (Perteguer *et al.*, 2001). En estudios realizados en modelos murinos se ha observado que, tanto los productos de excreción-secreción como el antígeno total larvario de *A. simplex* producen células dendríticas tolerogénicas que inducen la expansión de linfocitos T reguladores funcionales *in vitro* (Zamora *et al.*, 2013).

En otras enfermedades de tipo alérgico, la IgG4 específica se ha asociado con la protección, incluso cuando la IgE específica está presente. En los pacientes analizados por nosotros, los valores de IgG4 fueron superiores en el grupo de anisakiosis gastro-alérgica al compararlos con los de pacientes con urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis*, del mismo modo que los valores de IgE, pero, cuando se calculó el porcentaje de positivos, en el caso de la IgG4 se obtuvieron más sueros positivos en el caso de pacientes de anisakiosis gastro-alérgica, frente a ambos alérgenos principales *Ani s 1* y *Ani s 7*. Se calculó el cociente entre IgG4/IgE y, en el caso de *Ani s 7*, resultó ser superior en anisakiosis gastro-alérgica, no observándose diferencias significativas ni en el caso de *Ani s 1* ni con el antígeno total larvario, confirmándose que la IgG4 anti-*Ani s 7*, además de ser un factor de protección, es un marcador independiente de anisakiosis gastro-alérgica (Daschner *et al.*, 2014).

Al analizar los índices de avidéz de las inmunoglobulinas específicas en estos pacientes se observó que la avidéz de la IgG era significativamente mayor en anisakiosis gastro-alérgica mientras que hubo una tendencia a una menor avidéz de la

IgE en este mencionado grupo al compararlo con los pacientes de urticaria crónica asociada a sensibilización, observándose correlación negativa entre los niveles de IgE y los valores de avidéz de esta inmunoglobulina. En los pacientes de anisakiosis gastroalérgica se observó correlación negativa de la avidéz de la IgE con el tiempo transcurrido desde la aparición de los síntomas y correlación positiva con la frecuencia de consumo de pescado (Cuéllar *et al.*, 2013).

Ya hemos visto que puede no ser correcto seguir aplicando los dogmas de la alergia en el campo de la parasitología. En primer lugar, no existe uniformidad en la definición de alérgeno. Todas las definiciones son uniformes con respecto a la afirmación de que un alérgeno es un antígeno capaz de producir anticuerpos IgE, la mayoría, pero no todas, incorporan un requisito adicional: es necesario un estado atópico a fin de responder con una reacción de hipersensibilidad. Lo más importante, sin embargo, es que la definición rara vez incluye la necesidad de que el alérgeno sea un antígeno no parasitario (Goldsby *et al.*, 2003). Esto último sería lógico, ya que la respuesta de IgE frente a helmintos es universal en los mamíferos y se admite que el sistema inmunológico evolucionó en presencia de los helmintos. Así los primeros datos de la colonización por helmintos aparecen anotados sobre la historia filogenética de los vertebrados. También están datados los principales eventos en la evolución del sistema inmune y la aparición de mediadores de importancia en las respuestas antihelmínticas. Los macrófagos, los eosinófilos y los mastocitos ya estaban presentes en las lampreas antes del desarrollo de la inmunidad adaptativa clásica. Para que esto tuviera lugar fue necesario que aparecieran los genes RAG con el fin de permitir la aparición y diversidad de los receptores de los linfocitos T y B. Esto ocurriría en algún punto situado entre los Agnatha y la aparición de los peces cartilagosos (rayas y tiburones). La colonización de los platelmintos también ocurrió dentro de ese periodo. La primera evidencia de citoquinas Th2 y macrófagos activados alternativamente aparece en los Actinopterygii o peces óseos. La colonización de la tierra probablemente permitió la invasión de los primitivos tetrápodos por los nematodos parásitos. Finalmente, la IgE, tan importante en las respuestas antihelmínticas, es una reciente adquisición de los mamíferos (Jackson *et al.*, 2009).

2.3.- La tropomiosina como alérgeno principal y panalérgeno

Otro punto discordante es que, dos proteínas derivadas de *A. simplex* denominadas *Ani s 2* y *Ani s 3* han sido designados como panalérgenos (Pérez-Pérez *et al.*, 2000; Asturias *et al.*, 2000), pero, a diferencia de lo que ocurre en la alergia alimentaria, donde la presencia de panalérgenos explica las manifestaciones clínicas producidas por las fuentes de antígenos diferentes que contienen estos panalérgenos, hasta ahora no se ha demostrado que existan pan-alérgenos derivados de *A. simplex* que sean clínicamente relevantes.

Por ejemplo, *Ani s 3*, la tropomiosina de *A. simplex*, se ha caracterizado como un alérgeno, pero se ha encontrado que sólo una pequeña proporción de los sueros de individuos alérgicos a *Anisakis* reconocen este alérgeno (Asturias *et al.*, 2000). Santiago *et al.* (2011) sugirieron que la tropomiosina podría ser un candidato panalérgeno capaz de producir reactividad cruzada en filariosis humana lo que tendría como consecuencia la producción de un incremento de la sensibilización a los ácaros del polvo doméstico, observando una elevada reacción cruzada tanto a nivel

de IgE como de IgG entre las tropomiosinas de *D. pteronyssinus* (*Der p 10*) y de *Onchocerca volvulus*.

Teniendo en cuenta que la tropomiosina está considerada como el alérgeno principal de gambas y langostinos y un panalérgeno entre los invertebrados parece necesario cuestionarse si la tropomiosina de *A. simplex* puede considerarse como un verdadero panalérgeno y, si dependiendo del número de individuos que la reconocen, pudiera ser considerada como un alérgeno principal de *Anisakis*.

Ya que existe una elevada identidad de las tropomiosinas pertenecientes a un mismo grupo zoológico se probó su utilidad como marcador evolutivo. Tras el análisis filogenético se constató la utilización de la tropomiosina como una molécula útil para estudiar cambios evolutivos y relaciones filogenéticas, observándose una clara separación entre tropomiosinas alergénicas de invertebrados y las no alergizantes de vertebrados (Figura 5) (González-Fernández *et al.*, 2014). Así mismo, en las tropomiosinas de invertebrados se han encontrado cambios aminoacídicos clave para la formación de plegamientos, que no existen en las de vertebrados y que pueden ser responsables de la antigenicidad. En las tropomiosinas de vertebrados estudiadas existe un predominio de hélice alfa del 95%, que disminuye hasta un 85% en las de algunos invertebrados, pero, curiosamente, las tropomiosinas de los parásitos y ácaros *A. simplex*, *A. suum*, *Trichinella spiralis* y *D. pteronyssinus* presentan unos porcentajes de hélice alfa más altos y que se asemejan al de la tropomiosina de pollo (González-Fernández *et al.*, 2014).

Mediante el uso del programa Discotope 2.0 que predice epitopos B conformacionales a partir de estructuras proteicas tridimensionales se obtuvo el *Discotope Score* (probabilidad de ser epitopo) para cada uno de los 284 aminoácidos confirmó que el grupo de los parásitos presenta valores de *Discotope Score* (probabilidad de ser epitopo) intermedios entre vertebrados e invertebrados. El epitopo central previamente caracterizado en la tropomiosina del langostino *Litopenaeus vannamei* (*Lit v 1*) mostró similitud entre *Anisakis* y *Ascaris* y entre estos con las tropomiosinas de crustáceos productores de alergias (Figura 6) (González-Fernández *et al.*, 2015).

Para estudiar las posibles reacciones cruzadas y la importancia de la tropomiosina de *A. simplex* como alérgeno en la población, se utilizaron sueros de pacientes diagnosticados previamente como positivos a *Anisakis* mediante *Prick test* y *CAP System* y se enfrentaron en ELISA y *western-blot* a los antígenos de diferentes moluscos como pulpo (*Octopus vulgaris*), mejillón (*Mytilus edulis*) y almeja (*Venerupis philippinarum*), de crustáceos como langostino (*L. vannamei*) y cangrejo de río (*Procambarus clarkii*), otros artrópodos implicados en fenómenos alérgicos como ácaros (*D. pteronyssinus*) y cucarachas (*Blatella germanica*), así como los nematodos parásitos *Trichinella*, *Ascaris* y el mismo *Anisakis* como control; especies todas ellas de las que se dispone de la secuencia de sus tropomiosinas en las bases de datos de acceso libre, observándose una importante reactividad cruzada con todos los antígenos estudiados. Posteriormente, se realizó la determinación de IgE por ELISA en 79 sueros para comprobar su reacción con la tropomiosina recombinante de *A. simplex*, obteniendo un 11,39% de positivos, lo que confirma que *Ani s 3* no puede considerarse un alérgeno principal de *A. simplex* porque no es reconocido por el 50% de los pacientes diagnosticados como alérgicos frente a este parásito. Otro 11,6% de los sueros

reconocieron la tropomiosina recombinante del langostino *Pandalus borealis* que tiene un 98% de homología con la tropomiosina de *L. vannamei* que fue la especie de langostino incluido en nuestro estudio. Finalmente, tres de los sueros reconocieron ambas tropomiosinas, *Ani s 3* y *Pan b 1*. Esto sugiere que, en estos pacientes que habían sido previamente diagnosticados de urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis*, la urticaria crónica que presentan puede no deberse a *Anisakis*, sino a una exposición continuada a las tropomiosinas de gambas o langostinos y, posiblemente, de otros mariscos u otros invertebrados. Se investigó la posible causa de la reacción cruzada buscando la presencia de motivos comunes de unión a IgE. Para ello se utilizó como modelo la tropomiosina de *Penaeus aztecus* sobre la que se han descrito cinco regiones de unión a IgE y que presenta una elevadísima identidad con la de *P. borealis*. La reactividad cruzada observada en los tres pacientes citados anteriormente puede deberse a las regiones 4 y 5 ya que conservan el mismo motivo de unión a IgE (González-Fernández *et al.*, 2013).

Este hecho podría estar implicado en los fenómenos de urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis*. Como ha sido mencionado, la urticaria crónica se ha asociado con episodios de parasitismo previo por larvas de *Anisakis*, aunque los mecanismos etiopatogénicos no han sido dilucidados. Es interesante señalar que, como se ha indicado anteriormente, los niveles más bajos de IgG4 específicas frente a los antígenos de *A. simplex* se detectan en individuos que presentan reacciones urticariales crónicas. Por lo tanto, no se puede descartar que, en algunos casos, en los que pueda coexistir alguna alteración de la permeabilidad intestinal, como suele ocurrir en la alergia alimentaria, con baja o nula producción de IgG4 o IgA específicas, podría ocurrir que los alérgenos procedentes de las larvas muertas o de otros organismos incluidos en la alimentación, que comparten epitopos comunes, aunque fuera en cantidades bajas, se pusieran en contacto con las células cebadas de la submucosa produciendo una reacción urticarial prolongada o crónica (Daschner *et al.*, 2012).

Como consecuencia de estos estudios y teniendo en cuenta que ninguna tropomiosina de vertebrados ha sido caracterizada como alérgeno, con la excepción de *Ore m 4* la tropomiosina de la de tilapia *Oreochromis mossambicus*, y gracias a las observaciones realizadas en cuanto a la predicción de plegamientos en hélice alfa que sitúan a las tropomiosinas de pescados más próximas a las de invertebrados, se planteó la cuestión de la posible alergenicidad de las tropomiosinas de pescados en general (González-Fernández *et al.*, 2016).

Por ello, se realizó el seguimiento de un paciente con historia de alergia a ácaros del polvo, cucaracha y marisco que comenzó a presentar síntomas tras la ingesta de algunos pescados. Hay que resaltar que el paciente presentaba prueba cutánea positiva a *Anisakis* así como IgE específica de *Ani s 3*, que es la tropomiosina de *Anisakis*, pero era negativo a *Ani s 7*, alérgeno de *Anisakis* que es indicador de parasitación aguda previa. Se realizó la técnica de *western-blot* utilizando extractos de diferentes organismos vertebrados e invertebrados (González-Fernández *et al.*, 2016).

El suero del paciente reconoció todas las tropomiosinas de todas las especies de invertebrados analizadas (mejillón, navaja, almeja, berberecho, pulpo, calamar, cangrejo, langostino, camarón, nécora, *Anisakis*, *Trichinella* y *Ascaris*). El paciente no reconoció la tropomiosina de ninguna de las especies de pescado que toleraba (lubina, bacalao, tilapia, atún, trucha, salmón y boquerón). Tampoco reconoció bandas de

tropomiosina en los extractos de cerdo, vaca, conejo y pollo. Por el contrario, todos los pescados que le producían los síntomas alérgicos revelaron bandas de IgE frente a tropomiosina, excepto la raya y el gallo (rape, emperador, bonito, merluza). Estos resultados confirman la importancia y relevancia clínica de algunas tropomiosinas de vertebrados (González-Fernández *et al.*, 2016).

2.4.- Diferencias de reconocimiento de alérgenos principales

Otro factor que afecta a la consideración de los diferentes antígenos de *Anisakis* como alérgenos principales es el tiempo transcurrido entre el episodio gastroalérgico y el análisis del suero. En estudios realizados con los alérgenos recombinantes *Ani s 1* y *Ani s 7* se han observado descensos de hasta casi un 90% en los niveles de IgE específica detectada por ELISA tras uno o dos años de seguimiento (Anadón *et al.*, 2010).

Otra posible malinterpretación producida por la aplicación de los dogmas de la alergia a la parasitología se aprecia al aplicar la definición de alérgenos principales, los cuales deberían ser reconocidos por más del 50% de los pacientes sensibilizados frente a *Anisakis* (Daschner *et al.*, 2012). El primer alérgeno principal que se describió, *Ani s 1*, se comporta como alérgeno principal sólo después de un episodio de anisakiosis gastroalérgica, ya que es reconocido por más del 80% de los pacientes, pero sólo es detectado por el 42% de los casos en los que la IgE específica frente a *Anisakis* se asocia con urticaria crónica. Por el contrario, *Ani s 7* es altamente reconocido tanto después de un episodio de anisakiosis gastroalérgica, como en urticaria crónica asociada a *Anisakis*, con más del 90% de los individuos positivos en ambos casos. Este hecho pone de relieve la existencia de un contacto parasitario anterior en casi la totalidad de los pacientes diagnosticados de urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis* (Cuéllar *et al.*, 2012).

En conclusión, la anisakiosis gastroalérgica y la urticaria crónica asociada a sensibilización a *A. simplex* difieren en su respuesta de IgE e IgG4, tanto frente al antígeno total como a alérgenos determinados. Por ese motivo en un estudio posterior se midieron anticuerpos de los isotipos IgE e IgG4 frente a la hemoglobina de *A. simplex* en sueros de estos pacientes (González-Fernández *et al.* 2015). Para ello se utilizó un ELISA captura empleando el anticuerpo monoclonal 4/E8g capaz de reconocer tanto la hemoglobina de *Anisakis* como la de *Ascaris* (Nieuwenhuizen *et al.*, 2013). En el 63,4% de los pacientes sensibilizados a *Anisakis* se detectó IgE específica de la hemoglobina de *Anisakis*. Al ser reconocida por más del 50% de los individuos sensibilizados se consideró un nuevo alérgeno principal y fue nombrado como *Ani s 13* siguiendo las normas de nomenclatura internacional de alérgenos (<http://www.allergen.org/viewallergen.php?aid=797>) (González-Fernández *et al.*, 2015).

Al realizar el análisis por separado, se vio que el 80,9% de los sueros del grupo de anisakiosis gastroalérgica fueron positivos, frente un 47,8% de los pacientes de urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis*. En el caso de la IgG4, el 31,8% de los individuos sensibilizados resultaron positivos (47,6% en anisakiosis gastroalérgica y 17,3% en urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis*). Estos resultados ponen otra vez de manifiesto la diferente respuesta de las dos entidades clínicas alérgicas asociadas a la parasitación por *Anisakis* (González-Fernández *et al.*, 2015).

Sorprendentemente, ninguno de los sueros mostró niveles de anticuerpos IgE detectables frente a la hemoglobina de *Ascaris*. Por ello, se realizó un estudio *in silico* de los epitopios B de ambas moléculas tomando como modelo la estructura de *Chi t 1*, que es la conocida hemoglobina alergénica de *Chironomus tumi tumi*, observando la existencia de cinco epitopos en la hemoglobina de *Anisakis* y solo cuatro en la de *Ascaris*, con diferentes valores de propensión para ser epitopo obtenidos por *Discotope Score* (Figura 7). Esto podría explicar la ausencia de reacción cruzada y hacen de este alérgeno un potencial candidato para el desarrollo de herramientas diagnósticas más específicas (González-Fernández *et al.*, 2015).

2.5.- Perfil de citoquinas

Hemos dicho que debido a que el ser humano no es un hospedador natural de *Anisakis* y que el parasitismo en este caso es sólo agudo o "intermitente", podría carecer de las características inmuno-reguladoras típicas de las helmintosis crónicas causando por ello siempre enfermedad (Daschner y Cuéllar 2010). Para dilucidar la implicación de los posibles mecanismos inmunomoduladores en el hospedador humano, se ha estudiado el balance de citoquinas pro/antiinflamatorias en pacientes diagnosticados previamente de parasitación por larvas de *A. simplex*, tanto en muestras de suero como en sobrenadantes de cultivos de linfocitos aislados de sangre periférica (Daschner *et al.*, 2011; 2013).

Al investigar los niveles de citoquinas en sueros de pacientes diagnosticados de anisakiosis se demuestra que el contacto previo con los antígenos liberados por las larvas vivas de *A. simplex* se asocia con un incremento de las citoquinas reguladoras IL-10 y TGF- β , con valores significativamente más altos en los casos de anisakiosis gastro-alérgica. Esto sugiere que el contacto continuado con antígenos del parásito, a través de la ingestión de pescado parasitado con larvas vivas, mimetiza los efectos moduladores de los parasitismos crónicos en individuos genéticamente predispuestos (Daschner *et al.*, 2011; 2013).

Este hecho se confirmó al utilizar sobrenadantes de cultivos de linfocitos de sangre periférica obtenidos de los pacientes donde, tras la estimulación con el antígeno, los valores de la citoquina anti-inflamatoria IL-10 fueron superiores en anisakiosis gastro-alérgica, mientras que la producción de la citoquina pro-inflamatoria IFN- γ fue mayor en urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis* que en anisakiosis gastro-alérgica, lo que en otras palabras quiere decir que el fenotipo de anisakiosis gastro-alérgica produce una respuesta anti-inflamatoria mayor que el de urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis*, el cual produce más citoquinas pro-inflamatorias (Cuéllar *et al.*, 2012). El aumento de IL-10 estuvo asociado con la mejoría de los síntomas en los pacientes de urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis*. Por el contrario, no se observó mejoría en los pacientes que hicieron dieta exenta de pescado que reduciría el contacto con antígenos derivados de las larvas (Daschner *et al.*, 2013).

2.6.- Efecto de las co-infecciones

Otro aspecto a tener en cuenta son las infecciones concomitantes o poliparasitismos, donde los diferentes parásitos pueden inducir diferentes respuestas,

por ejemplo, un protozoo puede polarizar la respuesta hacia un fenotipo Th1 mientras que los helmintos inducen un fenotipo Th2 o regulador. La cuestión es que la coexistencia de tales parásitos en el mismo hospedador puede influenciar las respuestas inmunológicas frente a las distintas especies afectando la resistencia, la susceptibilidad y las manifestaciones clínicas (Supali *et al.*, 2010). Estos hechos pueden estar también afectando las manifestaciones clínicas de los pacientes tras el contacto con los antígenos larvarios de *A. simplex* dependiendo de la coexistencia de otros agentes infecciosos propios de nuestro entorno.

Por ese motivo, teniendo en cuenta que *Toxoplasma gondii* presenta una elevadísima prevalencia en población asintomática en nuestra región, produciendo infecciones crónicas y que, a su vez, es un organismo asociado con determinadas costumbres dietéticas, al igual que ocurre con *Anisakis*, y que, junto con otros agentes infecciosos, se ha postulado su posible papel protector sobre la atopia en el contexto de la hipótesis de la higiene, se analizó la relación entre ambos agentes en la urticaria crónica, observándose que, en los pacientes con urticaria crónica, *T. gondii* no tiene ningún efecto protector ni sobre la atopia en general ni sobre la sensibilización a *Anisakis*. Es más, se encontró un sinergismo entre ambos parásitos, con potenciación de la urticaria crónica, cuando se presenta una asociación positiva de la infección crónica por *Toxoplasma* con un parasitismo previo por *Anisakis* (Fernández-Fígares *et al.*, 2015).

Al estudiar los niveles de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma* e IgE anti-*Anisakis*, se observó, sorprendentemente, una mayor prevalencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma* en los pacientes con urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis*, demostrando que los niveles de anticuerpos IgE anti-*A. simplex* se ven potenciados por la presencia de *T. gondii*. Este hecho demuestra que la respuesta Th1 inducida por *T. gondii* es incapaz de inhibir la respuesta Th2 asociada a la parasitación por *A. simplex*. También se observó una asociación muy significativa entre la presencia de IgG anti-*T. gondii* y atopia, considerándose la presencia de IgG anti-*T. gondii* como factor de riesgo para presentar atopia en pacientes con urticaria crónica (Fernández-Fígares *et al.*, 2015).

AGRADECIMIENTOS

Departamento de Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid (Antonio R. Martínez Fernández, Juan González-Fernández, Marta Rodero, Virginia Fernández-Fígares, Vega Zamora). Servicio de Alergia, Hospital Universitario de La Princesa (Alvaro Daschner, Consolación de Frutos, Ana Valls). Laboratorio de Parasitología, Universidad de Santiago de Compostela (Florencio M. Ubeira, Ana Anadón, Fernanda Romarís). Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III (Teresa Gárate, Esperanza Rodríguez, María Jesús Perteguer). Universidad San Pablo, CEU (Carmen del Águila, Soledad Fenoy, Tomás Chivato). University of Cape Town (Andreas Lopata, Natalie Nieuwenhuizen). Norwegian Veterinary Institute (Christiane Kruse Faeste). Hospital Arnau de Vilanova (Juan Carlos Andreu Ballester). Centro de Investigaciones Biológicas (Luis Rivas, Juan Román Luque Ortega). Fundación Mutua Madrileña. Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. Fundación Ramón Areces.

BIBLIOGRAFÍA

Aguinaldo AM, Turbeville JM, Linford LS, Rivera MC, Garey JR, Raff RA, Lake JA. Evidence for a clade of nematodes, arthropods and other moulting animals. *Nature*. 1997;387:489-493.

Alonso A, Daschner A, Moreno-Ancillo A. Anaphylaxis with *Anisakis simplex* in the gastric mucosa. *N Engl J Med*. 1997;337:350-351.

Alonso A, Moreno-Ancillo A, Daschner A, López-Serrano MC. Dietary assessment in five cases of allergic reactions due to gastroallergic anisakiasis. *Allergy*. 1999;54:517-520.

Allen JE, Maizels RM. Diversity and dialogue in immunity to helminths. *Nat Rev Immunol*. 2011;11:375-388.

Anadón AM, Romarís F, Escalante M, Rodríguez E, Gárate T, Cuéllar C, Ubeira FM. The *Anisakis simplex* *Ani s 7* major allergen as an indicator of true *Anisakis* infections. *Clin Exp Immunol*. 2009;156:471-478.

Anadón AM, Rodríguez E, Gárate MT, Cuéllar C, Romarís F, Chivato T, Rodero M, González-Díaz H, Ubeira FM. Diagnosing human anisakiasis: recombinant *Ani s 1* and *Ani s 7* allergens versus the UniCAP 100 fluorescence enzyme immunoassay. *Clin Vaccine Immunol*. 2010;17:496-502.

Añibarro B, Seoane FJ. Occupational conjunctivitis caused by sensitization to *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol*. 1998;102:331-332.

APROMAR (Asociación Empresarial de productores de Cultivos marinos). Evaluación de la presencia de nematodos del genero *Anisakis* en los pescados de acuicultura marina españoles. 2012.

Armentia A, Lombardero M, Callejo A, Martín Santos JM, Gil FJ, Vega J, Arranz ML, Martínez C. Occupational asthma by *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol*. 1998;102:831-834.

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;15:120-127.

Asaishi K, Nishino C, Totsuka M, Hayasaka H, Suzuki T. Studies on the etiologic mechanism of anisakiasis. 2. Epidemiologic study of inhabitants and questionnaire survey in Japan. *Gastroenterol Jpn*. 1980;15:128-134.

Asturias JA, Eraso E, Martínez A. Cloning and high level expression in *Escherichia coli* of an *Anisakis simplex* tropomyosin isoform. *Mol Biochem Parasitol*. 2000;108:263-267.

Audicana MT, Kennedy MW. *Anisakis simplex*: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. *Clin Microbiol Rev*. 2008;21:360-379.

Audicana MT, Fernández de Corres L, Muñoz D, Fernández E, Navarro JA, del Pozo MD. Recurrent anaphylaxis caused by *Anisakis simplex* parasitizing fish. *J Allergy Clin Immunol*. 1995;96:558-560.

Audicana MT, Ansotegui IJ, de Corres LF, Kennedy MW. *Anisakis simplex*: dangerous-dead and alive? *Trends Parasitol*. 2002;18:20-25.

Ayuso R, Sánchez-García S, Lin J, Fu Z, Ibáñez MD, Carrillo T, Blanco C, Goldis M, Bardina L, Sastre J, Sampson HA. Greater epitope recognition of shrimp allergens by children than by adults suggests that shrimp sensitization decreases with age. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125:1286-1293.

Baeza ML, Rodríguez A, Matheu V, Rubio M, Tornero P, de Barrio M, Herrero T, Santaolalla M, Zubeldia JM. Characterization of allergens secreted by *Anisakis simplex* parasite: clinical relevance in comparison with somatic allergens. *Clin Exp Allergy*. 2004;34:296-302.

Barbuzza O, Guarneri F, Galtieri G, Gangemi S, Vaccaro M. Protein contact dermatitis and allergic asthma caused by *Anisakis simplex*. Contact Dermatitis. 2009;60:239-240.

Blaxter M. Nematodes (Nematoda). En: The Timetree of Life. Hedges SB y Kumar S, Eds. Oxford University Press. 2009.

Blaxter ML, De Ley P, Garey JR, Liu LX, Scheldeman P, Vierstraete A, Vanfleteren JR, Mackey LY, Dorris M, Frisse LM, Vida JT, Thomas WK. A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda. Nature. 1998;392:71-75.

Caballero ML, Umpierrez A, Moneo I, Rodriguez-Perez R. *Ani s 10*, a new *Anisakis simplex* allergen: cloning and heterologous expression. Parasitol Int. 2011;60:209-212.

Cooper PJ. Interactions between helminth parasites and allergy. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2009;9:29-37.

Cuéllar C, Perteguer MJ, De Las Heras B. Effects of *Anisakis simplex* on nitric oxide production in J774 macrophages. Scand J Infect Dis. 1998;30(6):603-606.

Cuéllar C, Perteguer MJ, Rodero M. Presence of IL-4-like molecules in larval excretory-secretory products and crude extracts from *Anisakis simplex*. Scand J Immunol. 2001;53:483-488.

Cuéllar C, Fernández-Figares V, Rodero M, Valls A, Frutos C, Daschner A. Cytokine production in gastro-allergic anisakiosis and associated chronic urticaria. European Multicolloquim of Parasitology XI. Cluj-Napoca. 2012.

Cuéllar C, Daschner A, Valls A, De Frutos C, Fernández-Figares V, Anadón AM, Rodríguez E, Gárate T, Rodero M, Ubeira FM. *Ani s 1* and *Ani s 7* recombinant allergens are able to differentiate distinct *Anisakis simplex*-associated allergic clinical disorders. Arch Dermatol Res. 2012;304:283-288.

Cuéllar C, Valls A, de Frutos C, Rodero M, Daschner A. Avidity Studies in *Anisakis simplex*-Associated Allergic Diseases. J Allergy (Cairo). 2013;2013:106781.

Daschner A, Cuéllar C. The hidden sense of symptoms: urticaria can be beneficial. Med Hypotheses. 2010;75:623-626.

Daschner A, Alonso-Gómez A, Cabañas R, Suarez-de-Parga JM, López-Serrano MC. Gastroallergic anisakiosis: borderline between food allergy and parasitic disease-clinical and allergologic evaluation of 20 patients with confirmed acute parasitism by *Anisakis simplex*. J Allergy Clin Immunol. 2000;105:176-181.

Daschner A, Cuéllar C, Alonso-Gómez A, Pascual CY, Martín-Esteban M. Serum CD23 is not altered in gastroallergic anisakiosis, but correlates with the production of specific IgE and the amount of polyclonal stimulation. Allergy. 2001;56:1003-1007.

Daschner A, Cuéllar C, Sánchez-Pastor S, Pascual CY, Martín-Esteban M. Gastro-allergic anisakiosis as a consequence of simultaneous primary and secondary immune response. Parasite Immunol. 2002;24:243-251.

Daschner A, Rodero M, DE Frutos C, Valls A, Vega F, Blanco C, Cuéllar C. Different serum cytokine levels in chronic vs. acute *Anisakis simplex* sensitization-associated urticaria. Parasite Immunol. 2011;33:357-362.

Daschner A, Cuéllar C, Rodero M. The *Anisakis* allergy debate: does an evolutionary approach help? Trends Parasitol. 2012;28:9-15.

Daschner A, Fernández-Figares V, Valls A, de Frutos C, Rodero M, Ubeira FM, Cuéllar C. Different fish-eating habits and cytokine production in chronic urticaria with and without sensitization against the fish-parasite *Anisakis simplex*. Allergol Int. 2013;62:191-201.

Daschner A, Fernández-Fígares V, Rodero M, Valls A, De Frutos C, Ubeira FM, Cuéllar C. Specific IgG4: possible role in the pathogenesis and a new marker in the diagnosis of *Anisakis*-associated allergic disease. *Scand J Immunol*. 2014;79:120-126.

De Ley P. A quick tour of nematode diversity and the backbone of nematode phylogeny (January 25, 2006), WormBook, ed. The *C. elegans* Research Community, WormBook, doi/10.1895/wormbook.1.41.1, <http://www.wormbook.org>.

Edgecombe GD. Palaeontological and Molecular Evidence Linking Arthropods, Onychophorans, and other Ecdysozoa. *Evo Edu Outreach*. 2009;2:178–190.

EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); Scientific Opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA Journal*. 2010;8:1543-1634.

Evaluación de la presencia de nematodos del genero *Anisakis* en los pescados de acuicultura marina españoles. Secretaría General del Mar del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino del Gobierno de España. 2012.

Fernández-Caldas E, Quirce S, Marañón F, Díez Gómez ML, Gijón Botella H, López Román R. Allergenic cross-reactivity between third stage larvae of *Hysterothylacium aduncum* and *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol*. 1998;101:554-555.

Fernández-Fígares V, Rodero M, Valls A, De Frutos C, Daschner A, Cuéllar C. Positive associations between infections of *Toxoplasma gondii* and seropositivity with *Anisakis simplex* in human patients suffering from chronic urticaria. *J Helminthol*. 2015;89:707-713.

Fumagalli M1, Pozzoli U, Cagliani R, Comi GP, Riva S, Clerici M, Bresolin N, Sironi M. Parasites represent a major selective force for interleukin genes and shape the genetic predisposition to autoimmune conditions. *J Exp Med*. 2009;206:1395-1408.

García-Hernández P, Rodero M, Cuéllar C. *Anisakis simplex*: the activity of larval products on the complement system. *Exp Parasitol*. 2007;115:1-8.

García-Hernández P, Rodero M, Cuéllar C. Study of the effect of *Anisakis simplex* larval products on the early and late components in the classical complement pathway. *J Parasitol*. 2009;95:240-241.

García-Hernández P, Rodero M, Gisbert-Criado R, Puente P, Pelayo V, Andreu-Ballester JC, Cuéllar C. The effect of anti-*Anisakis simplex* antibody levels on C3 and C4 complement components in human sera. *J Helminthol*. 2012;86:197-201.

Goldsby RA, Kindt TK, Osborne BA, Kuby J. *Immunology*, 5th Edition. WH Freeman and Company. New York. New York. 2003.

González-Fernández J, Perteguer MJ, Gárate T, Myrset HR, Egaas E, Rodero M, Daschner A, Cuéllar C. ¿Es la tropomiosina de *Anisakis simplex* un panalergeno alimentario? XVIII Congreso de la Sociedad Española de Parasitología. Gran Canaria. 2013.

González-Fernández J, Rodero M, Daschner A, Cuéllar C. New insights into the allergenicity of tropomyosin: a bioinformatics approach. *Mol Biol Rep*. 2014;41:6509-6517.

González-Fernández J, Daschner A, Nieuwenhuizen NE, Lopata AL, Frutos CD, Valls A, Cuéllar C. Haemoglobin, a new major allergen of *Anisakis simplex*. *Int J Parasitol*. 2015;45:399-407.

González-Fernández J, Morente Fontela M, Rodero M, Daschner A, Cuéllar C. Estudio *in silico* de la reactividad cruzada de la tropomiosina de *Anisakis simplex* basado en la predicción de epitopos B. XIX Congreso de la Sociedad Española de Parasitología (SOCEPA) II Encuentro Internacional de Parasitólogos de España, Francia, Italia y Portugal. Vitoria. 2015.

González-Fernández J, Veleiro B, Daschner A, Cuéllar C. Are fish tropomyosins allergens? *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2016;116:74-76.

Jackson JA, Friberg IM, Little S, Bradley JE. Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: immunity against helminths and immunological phenomena in modern human populations: coevolutionary legacies? *Immunology.* 2009;126:18-27.

Johansson E, Aponno M, Lundberg M, van Hage-Hamsten M. Allergenic cross-reactivity between the nematode *Anisakis simplex* and the dust mites *Acarus siro*, *Lepidoglyphus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae*, and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Allergy.* 2001;56:660-666.

Kasuya S, Hamano H, Izumi S. Mackerel-induced urticaria and *Anisakis*. *Lancet.* 1990;335:665.

Khan AR, Fallon PG. Helminth therapies: translating the unknown unknowns to known knowns. *Int J Parasitol.* 2013;43:293-299.

Kobayashi Y, Ishizaki S, Shimakura K, Nagashima Y, Shiomi K. Molecular cloning and expression of two new allergens from *Anisakis simplex*. *Parasitol Res.* 2007;100:1233-1241.

Kobayashi Y, Shimakura K, Ishizaki S, Nagashima Y, Shiomi K. Purification and cDNA cloning of a new heat-stable allergen from *Anisakis simplex*. *Mol Biochem Parasitol.* 2007;155:138-145.

Kobayashi Y, Ohsaki K, Ikeda K, Kakemoto S, Ishizaki S, Shimakura K, Nagashima Y, Shiomi K. Identification of novel three allergens from *Anisakis simplex* by chemiluminescent immunoscreening of an expression cDNA library. *Parasitol Int.* 2011;60:144-150.

Kobayashi Y, Kakemoto S, Shimakura K, Shiomi K. Molecular Cloning and Expression of a New Major Allergen, *Ani s 14*, from *Anisakis simplex*. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi.* 2015;56:194-199.

Leles D, Gardner SL, Reinhard K, Iñiguez A, Araujo A. Are *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum* a single species? *Parasit Vectors.* 2012;5:42.

London D, Hruschka D. Helminths and human ancestral immune ecology: What is the evidence for high helminth loads among foragers? *Am J Hum Biol.* 2014;26:124-129.

Lopez I, Pardo MA. Evaluation of a real-time polymerase chain reaction (PCR) assay for detection of *Anisakis simplex* parasite as a food-borne allergen source in seafood products. *J Agric Food Chem.* 2010;58:1469-1477.

Loreille O, Bouchet F. Evolution of ascariasis in humans and pigs: a multi-disciplinary approach. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2003;98:39-46.

Mattiucci S, Nascetti G. Advances and trends in the molecular systematics of anisakid nematodes, with implications for their evolutionary ecology and host-parasite co-evolutionary processes. *Adv Parasitol.* 2008;66:47-148.

Mattiucci S, Paoletti M, Webb SC. *Anisakis nascettii* n. sp. (Nematoda: Anisakidae) from beaked whales of the southern hemisphere: morphological description, genetic relationships between congeners and ecological data. *Syst Parasitol.* 2009;74:199-217.

Moneo IJ, Caballero ML, Gómez F, Ortega E, Alonso MJ. Isolation and characterization of a major allergen from the fish parasite *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;106:177-182.

Mossali C, Palermo S, Capra E, Piccolo G, Botti S, Bandi C, D'Amelio S, Giuffra E. Sensitive detection and quantification of Anisakid parasite residues in food products. *Foodborne Pathog Dis.* 2010;7:391-397.

Nieuwenhuizen N, Lopata AL, Jeebhay MF, Herbert DR, Robins TG, Brombacher F. Exposure to the fish parasite *Anisakis* causes allergic airway hyperreactivity and dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;117:1098-1105.

Nieuwenhuizen NE, Meter JM, Horsnell WG, Hoving JC, Fick L, Sharp MF, Darby MG, Parihar SP, Brombacher F, Lopata AL. A cross-reactive monoclonal antibody to nematode haemoglobin enhances protective immune responses to *Nippostrongylus brasiliensis*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7:e2395.

Ojha SC, Jaide C, Jinawath N, Rotjanapan P, Baral P. Geohelminths: public health significance. *J Infect Dev Ctries*. 2014;8:5-16.

Pérez-Pérez J, Fernández-Caldas E, Marañón F, Sastre J, Bernal ML, Rodríguez J, Bedate CA. Molecular cloning of paramyosin, a new allergen of *Anisakis simplex*. *Int Arch Allergy Immunol*. 2000;123:120-129.

Peráteguer MJ, Rodero M, Flores JM, Dórea RC, Cuéllar C. Cellular immune responses in mice immunized with *Anisakis simplex* larval antigens. *Parasitol Res*. 2001;87:396-404.

Peráteguer MJ, Cuéllar C, Guillén JL, Aguila C, Fenoy S, Chivato T, Laguna R. Cross-reactivity between *Anisakis simplex* sensitization and visceral larva migrans by *Toxocara canis*. *Acta Trop*. 2003;89:85-89.

Puente P, Anadón AM, Rodero M, Romarís F, Ubeira FM, Cuéllar C. *Anisakis simplex*: the high prevalence in Madrid (Spain) and its relation with fish consumption. *Exp Parasitol*. 2008;118:271-274.

REAL DECRETO 1420/2006, de 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.

REGLAMENTO (CE) N° 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

Rodríguez-Mahillo AI, González-Muñoz M, Gómez-Aguado F, Rodríguez-Pérez R, Corcuera MT, Caballero ML, Moneo I. Cloning and characterisation of the *Anisakis simplex* allergen *Ani s 4* as a cysteine-protease inhibitor. *Int J Parasitol*. 2007;37:907-917.

Rodríguez-Mahillo AI, González-Muñoz M, Moneo I, Solas MT, Mendizábal A, de las Heras C, Tejada M. Allergenic properties and cuticle microstructure of *Anisakis simplex* L3 after freezing and pepsin digestion. *J Food Prot*. 2008;71:2578-2581.

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*. 2010;7:967-973.

Rodríguez-Pérez R, Moneo I, Rodríguez-Mahillo A, Caballero ML. Cloning and expression of *Ani s 9*, a new *Anisakis simplex* allergen. *Mol Biochem Parasitol*. 2008;159:92-97.

Rook GA. Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: the broader implications of the hygiene hypothesis. *Immunology*. 2009;126:3-11.

Sakanari JA. *Anisakis*-from the platter to the microfuge. *Parasitol Today*. 1990;6:323-327.

Santiago HC, Bennuru S, Boyd A, Eberhard M, Nutman TB. Structural and immunologic cross-reactivity among filarial and mite tropomyosin: implications for the hygiene hypothesis. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127:479-486.

Sastre J, Lluch-Bernal M, Quirce S, Arrieta I, Lahoz C, Del Amo A, Fernández-Caldas E, Marañón F. A double-blind, placebo-controlled oral challenge study with

lyophilized larvae and antigen of the fish parasite, *Anisakis simplex*. *Allergy*. 2000;55:560-564.

Shakib F, Ghaemmaghami AM, Sewell HF. The molecular basis of allergenicity. *Trends Immunol*. 2008;29:633-642.

Simons FE, Arduzzo LR, Bilò MB, El-Gamal YM, Ledford DK, Ring J, Sanchez-Borges M, Senna GE, Sheikh A, Thong BY; World Allergy Organization. World allergy organization guidelines for the assessment and management of anaphylaxis. *World Allergy Organ J*. 2011;4:13-37.

Supali T, Verweij JJ, Wiria AE, Djuardi Y, Hamid F, Kaisar MM, Wammes LJ, van Lieshout L, Luty AJ, Sartono E, Yazdanbakhsh M. Polyparasitism and its impact on the immune system. *Int J Parasitol*. 2010;40:1171-1176.

Vidacek S, de las Heras C, Solas MT, Mendizábal A, Rodriguez-Mahillo AI, Tejada M. Antigenicity and viability of *Anisakis larvae* infesting hake heated at different time-temperature conditions. *J Food Prot*. 2010;73:62-68.

Wammes LJ, Mpairwe H, Elliott AM, Yazdanbakhsh M. Helminth therapy or elimination: epidemiological, immunological, and clinical considerations. *Lancet Infect Dis*. 2014;14:1150-1162.

Yazdanbakhsh M, Kremsner PG, van Ree R. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science*. 2002;296:490-494.

Zamora V, Rodero M, Méndez S, Cuéllar C. *Anisakis simplex* excretory-secretory products induce the expansion of T regulatory murine cells. *Congrés conjoint Sociétés Française & Espagnole de Parasitologie*. Dijon. 2013.

Zohar I, Biton R. Land, lake, and fish: Investigation of fish remains from Gesher Benot Ya'aqov (paleo-Lake Hula). *J Hum Evol*. 2011;60:343-356.

Zugarramurdi A, Parín MA, Lupin HM. Ingeniería económica aplicada a la industria pesquera. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. 1998.

Tabla 1. Subfamilia Anisakinae (Mattiucci y Nascetti, 2008; Mattiucci *et al.*, 2009).

Género <i>Anisakis</i>	Complejo <i>Anisakis simplex</i>	<i>A. simplex sensu stricto</i> <i>A. simplex C</i> <i>Anisakis pegreffii</i>
	Complejo <i>Anisakis physeteris</i>	<i>A. physeteris</i> <i>A. paggiae</i> <i>A. brevispiculata</i>
	<i>Anisakis typica</i> <i>Anisakis ziphidarum</i> <i>Anisakis schupakovi</i> <i>Anisakis nascetti</i>	
Género <i>Pseudoterranova</i>		
Género <i>Contracaecum</i>		
Género <i>Hysterothylacium</i>		

Tabla 2.- Prevalencia de larvas de *A. simplex* en pescados de diferentes áreas (EFSA, 2010)

Área	Especie	Número de muestras	Prevalencia; intensidad (media±SD, rango)
Mar de Barents	Bacalao	212 (océano) 207 (costa)	96%; 4,3 y 6,1 (océano y costa, respectivamente)
Norte de Noruega	Abadejo		100%; 2,6
Costa portuguesa	Jurel	58	76%; 6,2±10,2 (1-46)
	Caballa	45	96%; 12,7±14,8 (1-80)
	Merluza	3	100%, 51,3±5,7 (45-59)
	Bacaladilla	65	94%; 14,3±18,9 (1-89)
Madeira	Tonino	154	70%; 2,2±0,12 (1-6)
Costa mediterránea (España)	Bacaladilla (17-24 cm)	224	12%; 1,19
	Bacaladilla (>25 cm)	77	17%; 1,5
	Merluza		41%; 1,7
Costa mediterránea (Italia)	Chicharro	822	80-100%, 19,3-36,8
Galicia	Merluza, bacaladilla, maruca, rape, caballa, sargo y caballa		>70%; >14
Francia	Bacalao	304	1,97%; 1,5±0,8 (1-3)
	Merlán	169	3,55%; 1,14±0,5 (1-2)

Tabla 3.- Efecto de diferentes tratamientos sobre las larvas en los pescados (EFSA, 2010)

Pescado	Tratamiento	Parámetros
Arenque	salado	5% NaCl, >17 semanas
		6-7% NaCl, 10-12 semanas
		8-9% NaCl, 6 semanas
	Salado en seco	20 días
Anchoa	Marinado	10% ácido acético + 12% sal mínimo 5 días
		2,4% ácido acético + 6% NaCl 35 días
		10% ácido acético + 12% NaCl 5 días
Sardina	Marinado	6% ácido acético + 10% NaCl 24h + 4°C 13 días
Arenque	Marinado	28 días en escabeche (6,3% NaCl+ 3,7% ácido acético)
Salmón rojo y rocote canario	Congelación	-35°C 15h + -18°C 24h
Fletán	Congelación	-15°C 96h; -20°C 60h; -30°C 20h; -40°C 9h
Larvas <i>in vitro</i>	Congelación	-15°C pocos minutos
	Calentamiento	60°C >15 min
	Calentamiento	>60° (temperatura interior) 1 min
	Calentamiento	74°C 15 sec
	Calentamiento	60°C 10 min (filetes 3 cm)
	Extractos de plantas	[6]-shogaol 62,4 µg/ml; [6]-gingerol 250 µg/ml
Salmón real y fletán	Altas presiones	414 MPa 30-60 sec
		276 MPa 90-180 sec
		207 MPa 180 sec
Arenque	Irradiación	6-10 kGy
Congrio	Irradiación	>1 kGy

Tabla 4.- Alérgenos caracterizados de *Anisakis simplex*

	kDa	Función	Positividad	Referencia
<i>Ani s 1</i>	24	Inhibidor de tripsina tipo Kunitz	85%	Moneo et al, 2000
<i>Ani s 2</i>	97	Paramiosina	88%	Pérez-Pérez et al, 2000
<i>Ani s 3</i>	41	Tropomiosina	¿4%?	Asturias et al, 2000
<i>Ani s 4</i>	9	Cistatina	27%	Rodríguez-Mahillo et al, 2007
<i>Ani s 5</i>	15	Proteína SXP/RAL-2	25-49%	Kobayashi et al, 2007
<i>Ani s 6</i>	7	Serpina	18%	Kobayashi et al, 2007
<i>Ani s 7</i>	139	Glicoproteína	83-100%	Anadón et al, 2009
<i>Ani s 8</i>	15	Proteína SXP/RAL-2	25%	Kobayashi et al, 2007
<i>Ani s 9</i>	14	Proteína SXP/RAL-2	13%	Rodríguez-Perez et al, 2008
<i>Ani s 10</i>	21	¿?	39%	Caballero et al, 2011
<i>Ani s 11</i>	27	¿?	47%	Kobayashi et al, 2011
<i>Ani s 12</i>	31	¿?	57%	Kobayashi et al, 2011
<i>Ani s 13</i>	37	Hemoglobina	64-81%	González-Fernández et al, 2015
<i>Ani s 14</i>	24	¿?	53%	Kobayashi et al, 2015

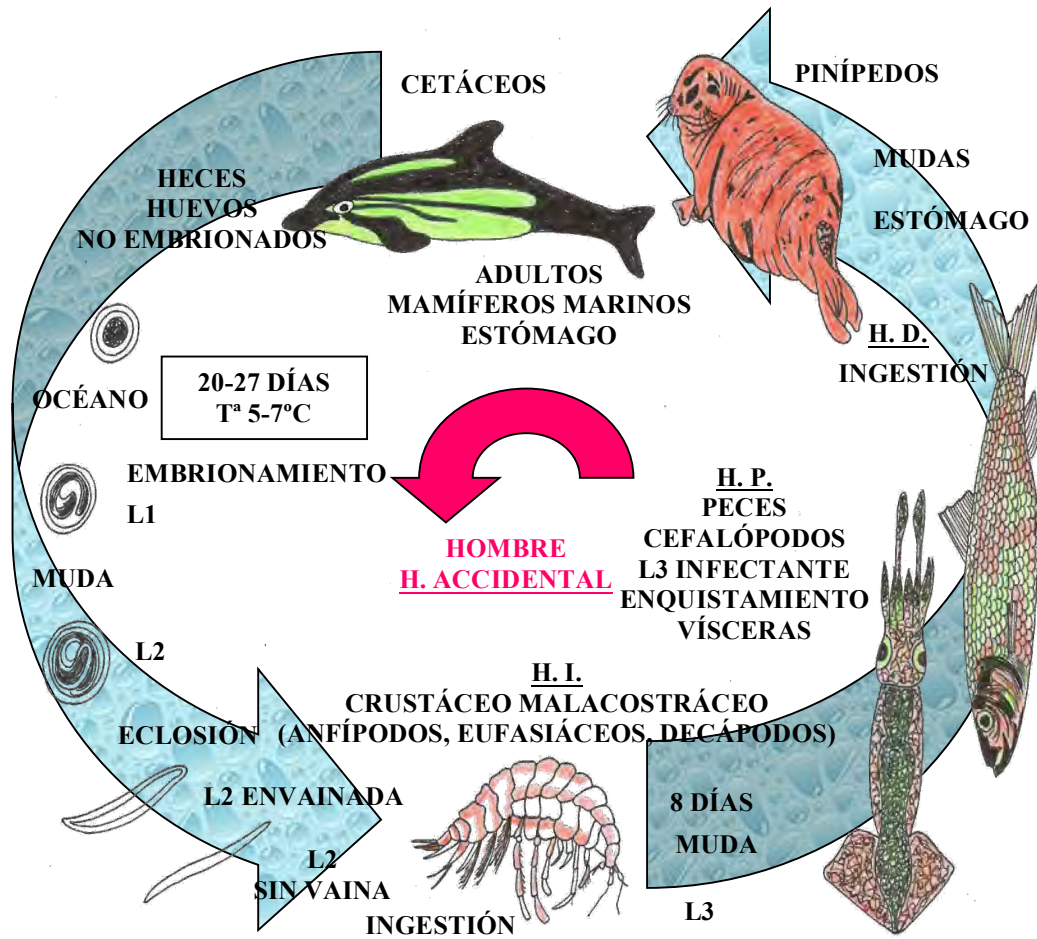


Figura 1.- Esquema del ciclo biológico de los anisákidos

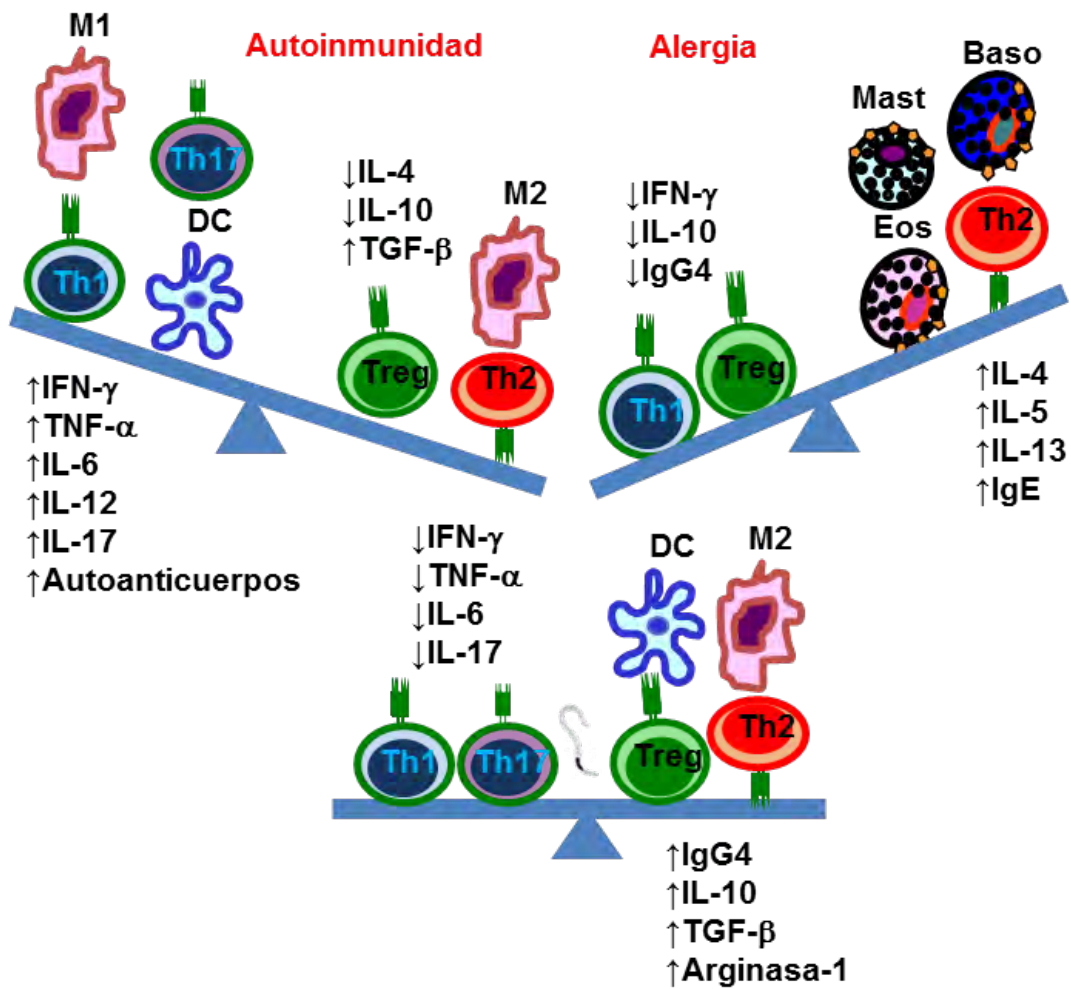
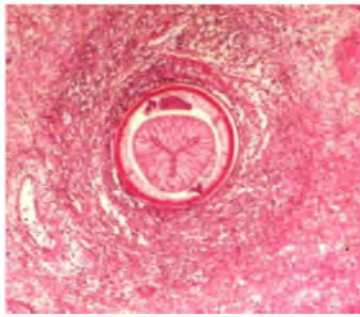


Figura 2.- Paradigma helmintos/inmunidad. Co-adaptación parásito/hospedador (Khan y Fallon, 2013; Wammes *et al.*, 2014).

- **GÁSTRICA:** 4-6 h p.i. Aguda: dolor, náuseas, urticaria.
- **INTESTINAL:** 7 d. Abdomen agudo o apendicitis.



- **ECTÓPICA (EXTRAGASTROINTESTINAL):** mesenterio, nódulos linfáticos, hígado, páncreas.
- **GASTROALÉRGICA:**
 - fiebre moderada, urticaria, asma, angioedema, anafilaxia, edemas y poliartritis.



Penetración L3 pared digestivo:
lesión traumática, dolor hemorragia, inflamación.

Figura 3.- Anisakiosis humana (Sakanari, 1990; Daschner et al., 2000).

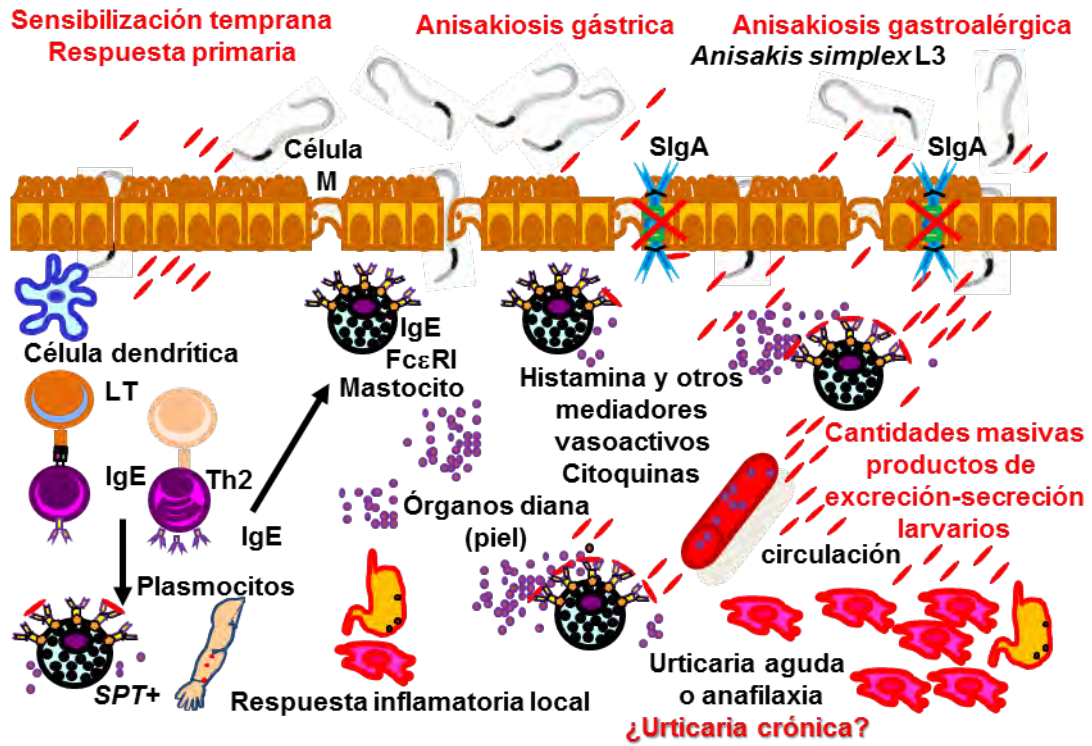


Figura 4.- Sensibilización en la anisakiosis gastro-alérgica (Daschner *et al.*, 2012).

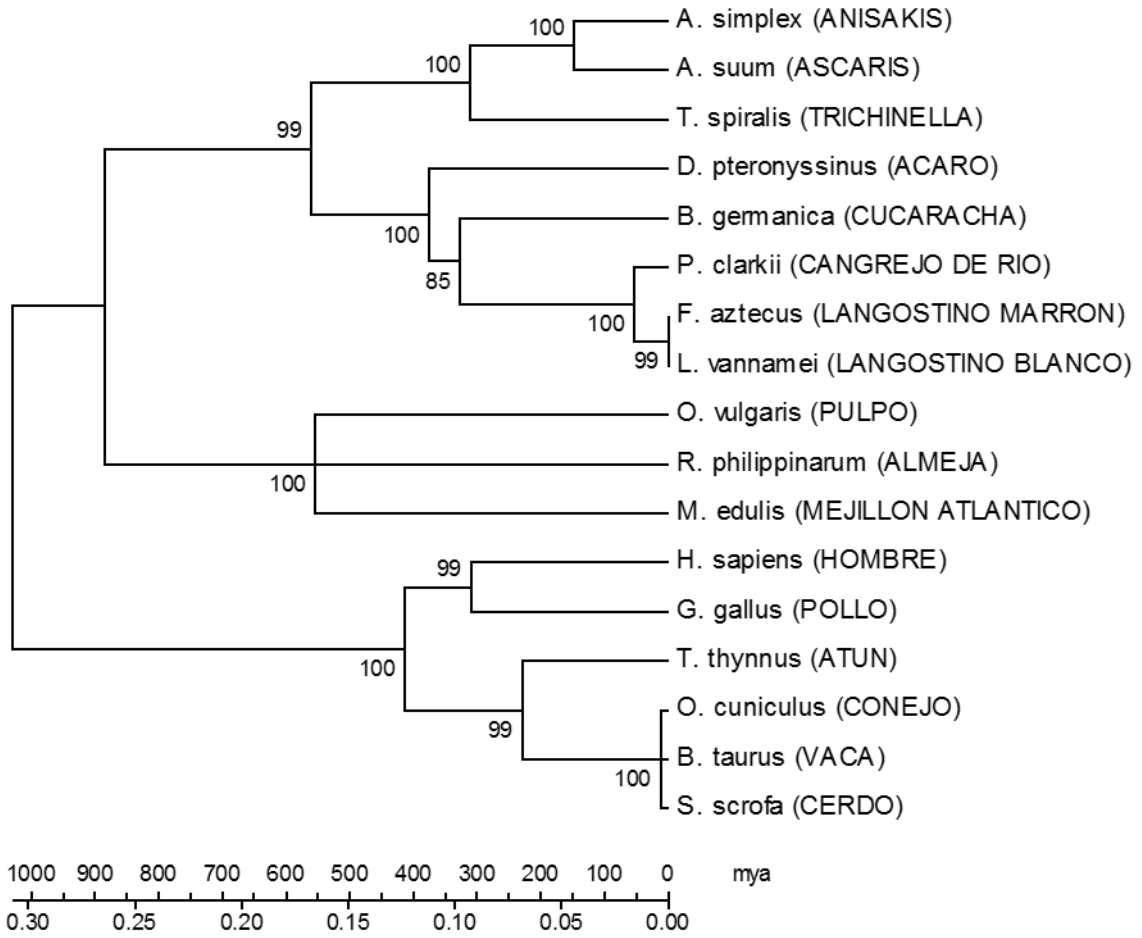


Figura 5.- Relaciones evolutivas obtenidas con el método Neighbor-Joining comparando 17 tropomiosinas (González-Fernández *et al.*, 2014).

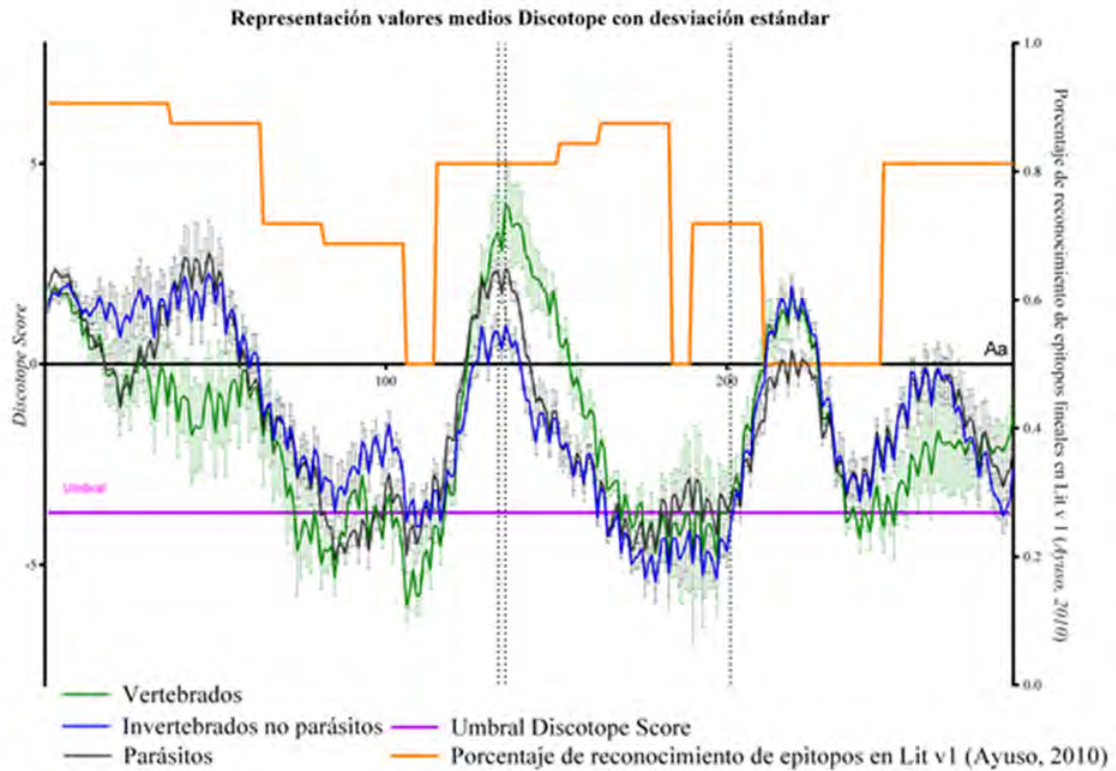


Figura 6.- Representación del valor medio de *Discotope Score* de las tropomiosinas de vertebrados, parásitos e invertebrados no parásitos; así como su comparativa con el nivel umbral de predicción y con el porcentaje de reconocimiento experimental en *Lit v 1* (Ayuso *et al.*, 2010). Las barras de error muestran la Desviación estándar. Aa: aminoácidos (leyenda del eje de abscisas). Líneas discontinuas en las posiciones 133, 135 y 201 – candidatas a generar alergenicidad (González-Fernández *et al.*, 2014).

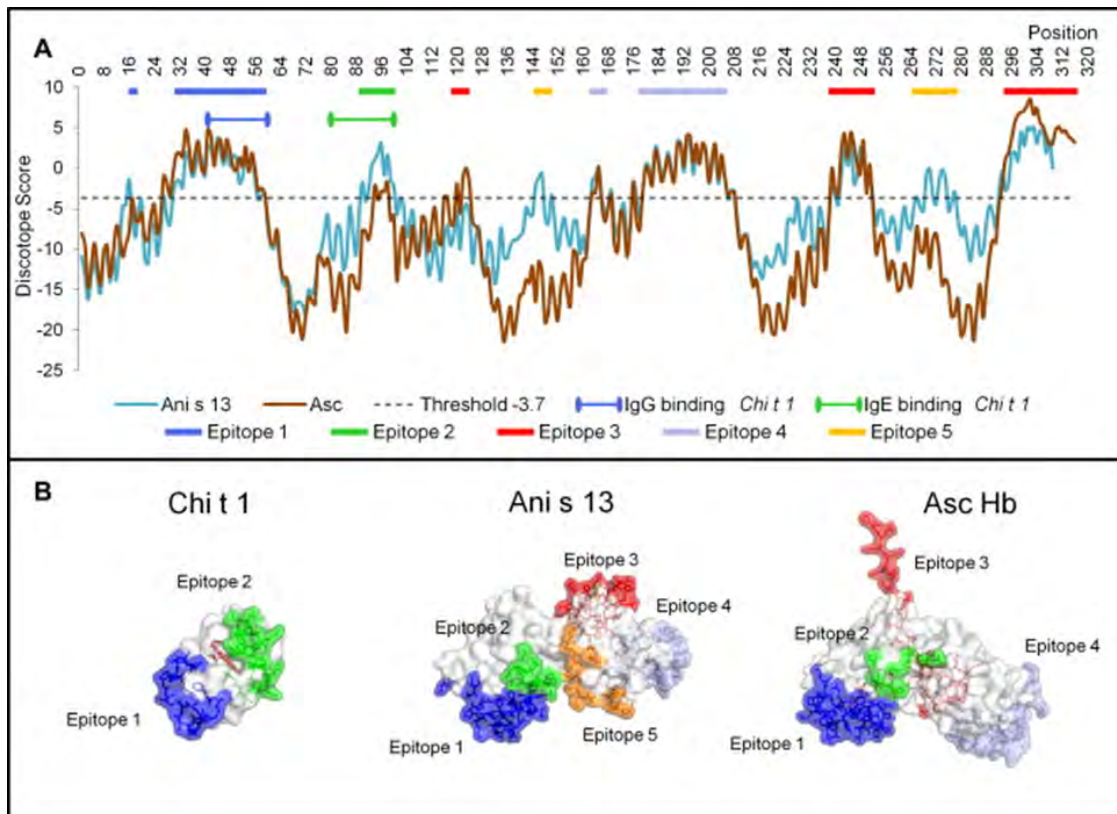


Figura 7.- (A) Valores de *Discotope Score* de los modelos de hemoglobina de *Anisakis pegreffii* y *Ascaris suum*. (B) Representación tridimensional de *Chi t 1.01* (PDB: 1ECO) y de los modelos de hemoglobina de *A. pegreffii* (*Ani s 13*) and *A. suum* (*Asc Hb*) (González-Fernández *et al.*, 2015).