



## FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

# El papel inmunomodulador de los antígenos de Anisakis en el ser humano.

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Junio 2023

**Autor: Marta Santos Rodrigálvarez**

Modalidad: Revisión sistemática.

Tutor/es: Lucrecia Acosta Soto

Fernando Jorge Bornay Llinares

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	2
<b>ABSTRACT</b>	3
<b>ABREVIATURAS</b>	4
<b>1. INTRODUCCIÓN.</b>	5
1.1. Epidemiología.	5
1.2. Ciclo biológico.	7
1.3. Clínica en el ser humano.	9
1.4. Diagnóstico.	12
1.5. Tratamiento.	13
<b>2. OBJETIVOS.</b>	15
2.1. Objetivo general.	15
2.2. Objetivos específicos.	15
<b>3. MÉTODOS.</b>	16
3.1. Diseño.	16
3.2. Estrategia de búsqueda.	16
3.3. Criterios de selección.	16
<b>4. RESULTADOS.</b>	18
4.1. Resultados de la búsqueda.	18
4.2. Respuesta inmune frente a Anisakis.	19
4.2.1. Respuesta inmune innata.	20
4.2.2. Respuesta inmune adaptativa.	21
4.2.2.1. Respuesta inmune adaptativa Th1.	23
4.2.2.2. Respuesta inmune adaptativa Th2.	23
4.2.3. Respuesta alérgica frente a Anisakis.	23
4.2.4. Regulación de la respuesta inmune del ser humano por parte de Anisakis.	25
4.2.4.1. Regulación de la respuesta inmune a Anisakis por las células dendríticas.	25
<b>5. DISCUSIÓN.</b>	27
<b>6. CONCLUSIONES.</b>	30
<b>7. REFERENCIAS.</b>	31

## RESUMEN

**Introducción:** La anisakiasis es una infección cada día más frecuente debido al aumento de consumo de pescado crudo en las últimas décadas. *Anisakis* spp. y su respuesta en el ser humano han sido estudiados en numerosos artículos que discuten tanto el tipo de respuesta inmune como los mecanismos implicados en esta. Además, resulta útil conocer la capacidad del nemátodo para modular esta respuesta y los mecanismos que participan en esta inmunomodulación para poder ampliar el conocimiento de esta infección/alergia y desarrollar nuevas técnicas de diagnóstico y tratamiento.

**Objetivo:** El objetivo principal de este trabajo fin de grado es realizar una revisión sistemática sobre los efectos de los antígenos de *Anisakis* spp. en la respuesta inmunitaria del ser humano.

**Métodos:** Revisión sistemática de los artículos recuperados en las bases de datos MEDLINE, Scopus y Embase.

**Resultados y discusión:** De 557 artículos recuperados, tras la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión, se seleccionaron 10 artículos que tratan la respuesta inmune del ser humano a los antígenos de *Anisakis* spp. En general, tanto la alergia como la infección por *Anisakis* spp. se consideran dos componentes de la misma respuesta, relacionada principalmente con una diferenciación Th2.

**Conclusión:** A largo del tiempo, los antígenos de *Anisakis* spp. han sido capaces de modificar la respuesta inmune del ser humano al entrar en contacto con el nematodo, inmunomodulando mecanismos esenciales que nos protegen contra la infección, lo que resulta útil para su supervivencia en la luz intestinal y evita respuestas excesivas por parte del organismo al que parasitan.

**Palabras clave:** Anisakis, respuesta inmune.

## ABSTRACT

**Introduction:** Anisakiasis is becoming a more common infection due to the increase in consumption of raw fish in recent decades. *Anisakis* spp. and its response in humans have been studied in numerous articles that discuss both types of immune response and the mechanisms involved in it. In addition, it is useful to know the ability of the nematode to modulate this response and the mechanisms involved in this immunomodulation in order to broaden the knowledge of this infection/allergy and develop new diagnostic and treatment techniques.

**Objective:** The main objective of this final degree project is to carry out a systematic review on the effects of *Anisakis* spp. in the human immune response.

**Methods:** Systematic review of the articles retrieved from the MEDLINE, Scopus and Embase databases.

**Results and discussion:** From 557 articles retrieved, after applying the inclusion and exclusion criteria, 10 articles dealing with the human immune response to *Anisakis* spp. antigens were selected. In general, both allergy and infection by *Anisakis* spp. two components of the same response are considered, mainly related to a Th2 differentiation.

**Conclusion:** Over time, *Anisakis* spp. antigens have been able to modify the human immune response when they get in contact with the nematode, immunomodulating essential mechanisms that protect us against infection, which is useful for its survival in the intestinal lumen and prevents excessive responses from the host organism they parasitize.

**Keywords:** Anisakis, immune response.

## ABREVIATURAS

- CD: Células Dendríticas.
- HD: Hospedador definitivo.
- HI: Hospedador intermediario.
- HA: Hospedador accidental.
- HP: Hospedador paraténico.
- L1, L2, L3, L4: Larvas estadio 1, 2, 3 y 4.
- AGA: Anisakidosis gastroalérgica.
- UC+: Úlcera crónica.
- AG: Anisakidosis gástrica.
- Ig: Inmunoglobulina.
- V.O: Vía oral.
- Th1: T colaboradores tipo 1.
- Th2: T colaboradores tipo 1.
- NO: Óxido nítrico.
- PMN: Leucocitos polimorfonucleares.
- IL: Interleucina.
- TGF-beta: Factor de crecimiento transformante.
- ROS: Especie reactiva de oxígeno.
- IFN-beta: Interferón beta.
- CCL3: Ligando de quimiocina tipo 3.
- ES: Antígeno de excreción secreción.
- TSLP: Linfopoyetina estromal tímica.
- PCA: Análisis del componente principal.
- APC: Células presentadoras de antígenos.
- ILC: Células linfoides innatas.

# 1. INTRODUCCIÓN.

*Anisakis simplex* es una especie de parásito nemátodo marino que pertenece a la familia Anisakidae, orden Ascarida y clase Chromadorea (NCBI Taxonomy, ITIS). Producen una enfermedad denominada anisakiosis o anisakidosis que puede afectar a humanos a pesar de que el ser humano no es el hospedador definitivo. Los hospedadores definitivos de este parásito son los mamíferos marinos, por lo que se definió como antropozoonosis<sup>1</sup>.



Figura 1. Larvas de *Anisakis simplex*<sup>2</sup>.

## 1.1. Epidemiología.

La anisakidosis es una nematodosis que presenta distribución mundial, aunque la mayoría de los casos se encuentran en Japón debido a que los hábitos culinarios de la zona ayudan al aumento de la prevalencia del parásito<sup>2</sup>.

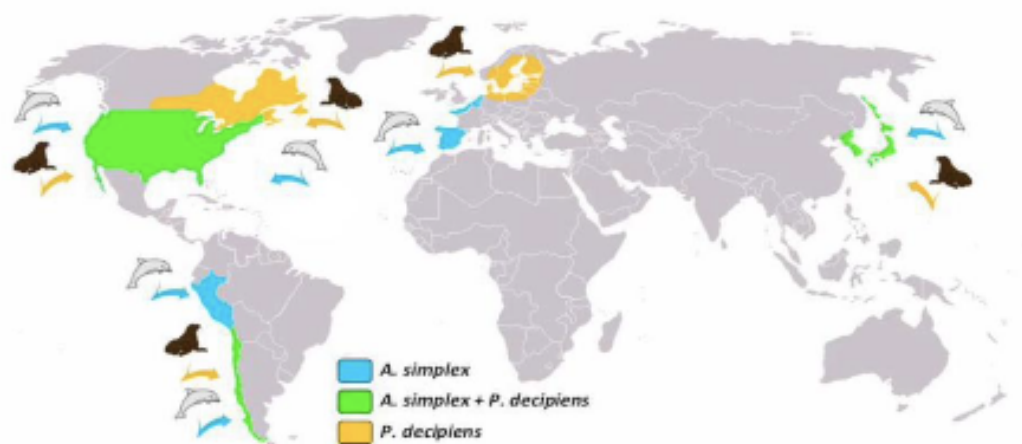


Figura 2. Distribución mundial de *Anisakis simplex* y *Pseudoterranova decipiens*<sup>3</sup>.

Es un problema a nivel mundial ya que se trata de un parásito extendido y cosmopolita, resulta ser de particular importancia en Japón, la costa del Pacífico de América del Sur y partes del norte de Europa<sup>3</sup>. Las elevadas tasas de anisakiosis alrededor del mundo han aumentado en los últimos años con el consumo de pescados crudos como el sushi hacen que este parásito se haya convertido en un problema de salud pública<sup>4</sup>.

Aunque la anisakiosis está extendida en todo el mundo, resulta de gran utilidad conocer que el agente causante varía en cuanto a la zona geográfica en la que nos encontremos:

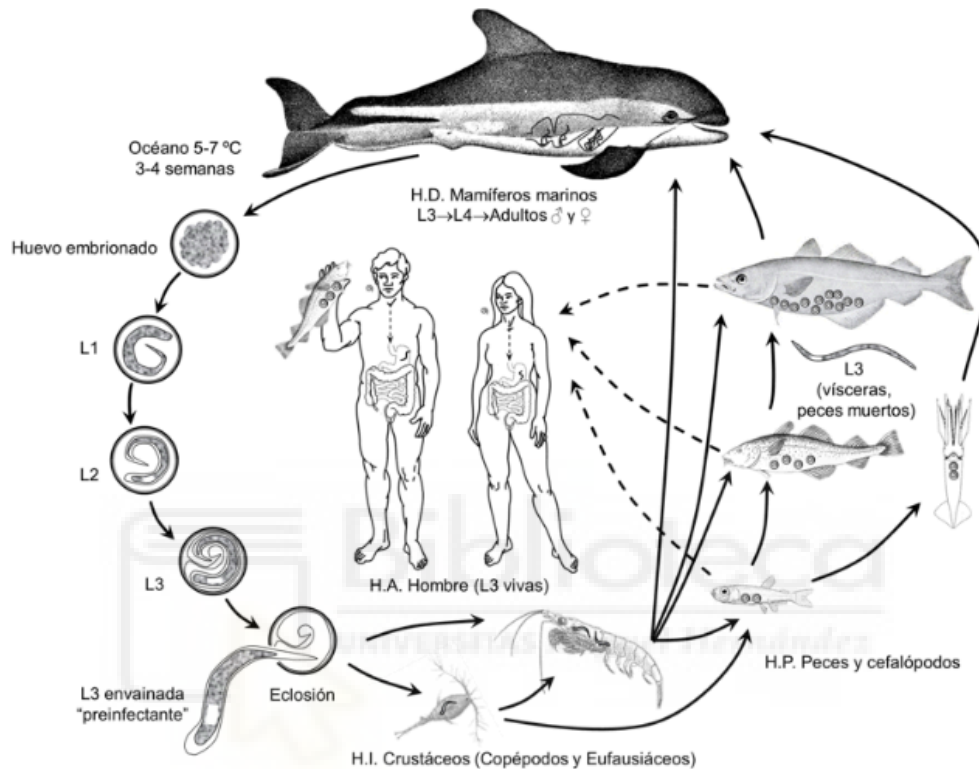
<b>Parásito causante de anisakiasis</b>	<b>Zona geográfica en la que se encuentra</b>
<i>A. simplex sensu stricto</i>	Aguas profundas y ambientes costeros en el Atlántico, océano Pacífico y la costa de Alaska.
<i>A. pegreffii</i>	Hemisferio sur.
<i>Pseudoterranova decipiens</i>	Ambientes costeros de aguas frías. Atlántico norte, océanos Ártico y Sur, Japón y frente a la costa sur de Chile.
<i>Contracaecum osculatum</i>	Aguas frías.

**Tabla 1.** Distribución geográfica de *Anisakis* spp. <sup>3,5</sup>.

En cuanto a la situación en España, es una de las nematodosis más prevalentes, aunque el número de casos exacto es un dato desconocido hasta el momento<sup>2</sup>. Estudios de seroprevalencia han demostrado una notable variabilidad entre las distintas regiones españolas. Por ejemplo, en Galicia existe una seroprevalencia de 0,43%, llegando a ser hasta el 15,7% en el centro de la península y 22,1% en el sur <sup>6,7</sup>. Se ha observado en numerosos estudios que la seropositividad es más prevalente en consumidores habituales de pescado fresco o poco cocinado<sup>8</sup>.

## 1.2. Ciclo biológico.

El helminto adulto de los anisákidos reside en el estómago de mamíferos marinos incrustados en la mucosa y generalmente se encuentran varios agrupados. Los huevos que producen las hembras adultas se eliminan por las heces de dichos mamíferos marinos<sup>2</sup>.



**Figura 3.** Ciclo biológico de *Anisakis spp*<sup>4</sup>.

Una vez los huevos están en el medio acuático, las larvas L1 salen del huevo y se transforman en larvas L2 manteniendo la cutícula a modo de vaina, lo que le propicia resistencia para sobrevivir en el medio acuoso aproximadamente durante 4 semanas<sup>9</sup>.

Pequeños crustáceos (principalmente presentes en el plancton) ingieren estas larvas L2, que pierden la vaina y se transforman en larvas de tercer estadio (L3), con capacidad infecciosa. Dentro del crustáceo, las larvas migran desde el intestino del hacia la cavidad abdominal, terminando en los tejidos del mesenterio y músculo esquelético. Las larvas L3 resultan infecciosas para peces y cefalópodos que actúan como hospedadores paraténicos, es decir, son hospedadores intermediarios que no son necesarios para que el parásito pueda



desarrollarse pero que son capaces de mantener su estado vital. Además, estas larvas L3 pueden aumentar su tamaño en el hospedador paraténico. Así, calamares y peces pueden contener larvas infecciosas para humanos y para mamíferos marinos como ballenas, delfines, leones marinos o focas<sup>5</sup>.



**Figura 4.** Larvas de *Anisakis simplex* parasitando el estómago de una ballena<sup>10</sup>.

Cuando los mamíferos marinos, que son los hospedadores definitivos, ingieren peces o calamares que contienen larvas L3 tiene lugar la tercera muda con paso a larva de estadio L4 (pre-adulto) (2,8-3,5 cm de largo) en el intestino que, posteriormente, da lugar a adulto macho (3,5-7 cm) o hembra (4,5-15 cm)<sup>11</sup>. Tras la cópula, la hembra adulta deposita los huevos fertilizados que se expulsarán con las heces del cetáceo repitiéndose de nuevo el ciclo completo<sup>12</sup>.

En el caso de que un humano ingiera un hospedador paraténico, las larvas que contiene van a penetrar en la mucosa gástrica e intestinal, provocando los consecuentes síntomas<sup>4</sup>.

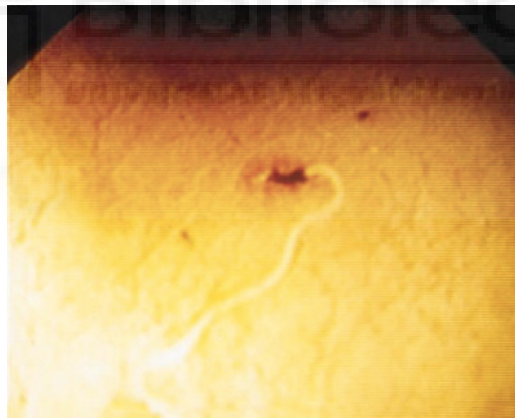
El ser humano podrá ser hospedador accidental al consumir pescado o cefalópodos, crudos o poco cocinados, que estén infectados por larvas L3. Es decir, desarrollarán una respuesta cuando ingieran a un hospedador paraténico y, aunque en el ser humano las larvas no serán capaces de alcanzar el estadio adulto, se podrá desarrollar anisakidosis si las larvas penetran en la mucosa gástrica e intestinal<sup>12,33</sup>.

En conclusión, cualquier pescado parasitado por *Anisakis* puede causar anisakiosis cuando es ingerido crudo o poco cocinado por los seres humanos, hospedadores accidentales.

### 1.3. Clínica en el ser humano.

Antes de hablar de la clínica, se debe hacer referencia a la diferencia entre los términos anisakiosis y anisakidosis. El término anisakiosis se refiere a la patología producida por *Anisakis* spp. y el término anisakidosis se refiere al conjunto de enfermedades producidas por cualquier parásito perteneciente a la familia Anisakidae<sup>5</sup>. A pesar de esta diferencia, en la literatura se utilizan ambos términos indistintamente.

La clínica de la anisakiosis en el ser humano aparece al ingerir larvas de algunas especies de nemátodos en peces poco cocinados. Suele aparecer, generalmente, horas después de la ingestión de dichas larvas con síntomas abdominales agudos. Debido a que este primer síntoma es muy inespecífico, resulta habitual confundirlo con cualquier otra afección que curse con dolor abdominal, como apendicitis o úlceras pépticas. No siempre se da una anisakiosis, las larvas en ocasiones son expectoradas o digeridas<sup>13,14</sup>.



**Figura 5.** Gastroscopía de fibra óptica para el diagnóstico de la anisakiosis gastroalérgica. Erosión hemorrágica producida por *Anisakis* spp.<sup>14</sup>.

Según la localización de las lesiones producidas por la ingesta de larvas de anisakis, podemos distinguir tres tipos de anisakiosis: gástrica, intestinal o ectópica. Además, cuando las típicas manifestaciones digestivas se acompañan de síntomas alérgicos se denomina anisakidosis gastroalérgica (AGA)<sup>13</sup>.

### **1.3.1. Anisakiosis gástrica.**

La anisakiosis gástrica cursa con dolor, náuseas y urticaria. Sería anisakiosis gástrica aguda de 4-6h tras la ingestión. Se ha descrito sobre todo en Japón con un 93% de afectación en estómago<sup>11</sup>. Esta diferencia de localizaciones de las afectaciones gástricas genera controversia y duda. Se piensa que esto depende de múltiples factores como pueden ser los hábitos dietéticos, el sexo o las técnicas empleadas para el diagnóstico<sup>15</sup>. Se pueden distinguir dos tipos de anisakidosis gástrica: aguda o crónica.

#### **1.3.1.1. Anisakidosis gástrica aguda.**

La anisakidosis gástrica aguda es la manifestación de la penetración de la larva en la mucosa gástrica o submucosa. Normalmente, aparece entre una y ocho horas tras ingerir el pescado crudo conteniente del parásito, aunque puede llegar a manifestarse hasta después de 12 horas. Las manifestaciones más características de este tipo de anisakidosis gástrica son náuseas, vómitos, diarrea, dolor epigástrico y prurito. Además, en la analítica de sangre se puede llegar a observar eosinofilia que puede estar o no acompañada de leucocitosis y en la mayoría de los casos se puede encontrar sangre en heces<sup>16</sup>. Al tratarse de una sintomatología tan inespecífica, un gran porcentaje de pacientes con esta patología queda sin diagnosticar.

#### **1.3.1.2. Anisakidosis gástrica crónica.**

La anisakidosis gástrica crónica se da una vez la enfermedad cronifica. La reabsorción de los productos de la degradación que ocurre tras la muerte de la larva de anisakis lleva a la formación de una lesión granulomatosa. Los síntomas son dispepsia, náuseas y vómitos que tienen una duración variable desde pocos meses hasta varios años<sup>15</sup>.

### **1.3.2. Anisakidosis intestinal.**

La anisakidosis intestinal aparece tras 5-7 días tras la ingestión del pescado crudo y cursa con un dolor agudo fuerte, además, la inflamación puede dar lugar a una masa inflamatoria palpable<sup>17</sup>. Es habitual encontrar moco o sangre en las heces. Este tipo de anisakidosis se puede confundir con otras patologías ya que su localización más habitual es el íleon. Aún así, conviene

estar al tanto de síntomas en otras localizaciones ya que, aunque es menos habitual, también se pueden dar en el intestino delgado o colon. En este tipo de anisakiosis es especialmente importante la realización de un correcto diagnóstico diferencial para descartar otras patologías que cursan con síntomas similares para evitar la cronificación<sup>18</sup>.

### **1.3.3. Anisakidosis ectópica.**

La anisakidosis ectópica, extraintestinal o heteróloga es aquella en la que las larvas de *Anisakis* han migrado a otros órganos extraintestinales tales como boca, faringe, laringe, vísceras sólidas, pulmón, páncreas o hígado<sup>19,20</sup>. Aunque también se deben tener en cuenta todas estas localizaciones para el diagnóstico, es cierto que no son las habituales y se dan en una minoría de casos<sup>20</sup>.

### **1.3.4. Anisakidosis gastroalérgica.**

La anisakidosis gastroalérgica se caracteriza por producir fiebre, angioedema, urticaria, asma, anafilaxia y poliartritis. En general, también es común la aparición de eosinofilia<sup>20,21</sup>. También se pueden dar reacciones crónicas que se caracterizan por recurrentes cuadros alérgicos que implican, sobre todo, el sistema digestivo y la piel. Los dos cuadros alérgicos principales son:

#### **1.3.4.1. Anisakidosis gastroalérgica (AGA)**

La anisakidosis gastroalérgica (AGA) incluye síntomas como urticaria aguda, anafilaxia o angioedema. La hipersensibilidad alérgica provocada está mediada por IgE que aparecen unas horas después del consumo del pescado crudo o poco cocinado que contiene las larvas de *A. simplex*<sup>20</sup>.

#### **1.3.4.2. Urticaria crónica (UC+)**

La urticaria crónica asociada a sensibilización a *A. simplex* (UC+) se produce cuando aparece un cuadro alérgico ante la presencia de antígenos larvarios de *A. simplex*<sup>2</sup>.

A pesar de la gravedad de algunos tipos de anisakidosis, la mayoría de las infecciones causadas por *Anisakis* son autolimitadas ya que las larvas no son capaces de permanecer dentro del ser humano durante largos períodos de

tiempo. No obstante, el daño a los tejidos que se da durante la infección puede provocar daños que perduren incluso al finalizar dicha infección<sup>2</sup>.

#### 1.4. Diagnóstico.

El diagnóstico habitual de la anisakidosis es, como primer método, la anamnesis del paciente. Se valora la ingesta de pescado crudo o poco cocinado en las 48 horas anteriores al momento en el que aparecen los síntomas. El diagnóstico se confirma con un diagnóstico serológico en el que aparecen niveles positivos de IgE específica en el suero, que se acompaña con pruebas cutáneas con el extracto proteico de larvas de anisakis, que también resultarán ser positivas<sup>4</sup>.

La IgE será positiva cuando exista un valor mayor o igual a 0,35 kU/l medida con ImmunoCAP®<sup>22</sup>, aunque es cierto que se ha demostrado una mayor especificidad si el umbral de positividad es 0,7 kU/l en el caso del antígeno de *Anisakis* spp.<sup>23</sup>.

En el caso de la prueba cutánea, la positividad de la prueba depende del desarrollo de un habón tras la inoculación de extracto proteico. Se considera positiva la prueba cuando el diámetro del habón es de 3 mm o más. Como control positivo de esta prueba se utiliza la histamina al 1% y como control negativo una solución salina del 0,9%<sup>14</sup>.

No obstante, dependiendo del tipo de anisakidosis que tenga un paciente se deben tener en cuenta algunos distintivos:

- En el caso de pacientes con **anisakidosis gástrica (AG)**, se pueden observar las larvas por endoscopia, que se suele realizar debido a que en este caso se da un fuerte dolor abdominal en el paciente. En este caso, se puede aprovechar la propia endoscopia para retirar con pinzas las larvas que están penetradas en la mucosa intestinal. De hecho, el tratamiento en Japón consiste principalmente en la extracción de la larva con pinza por endoscopia, siempre y cuando esta sea accesible<sup>24,25</sup>.
- En el caso de pacientes con **anisakidosis gástrica crónica** es de gran importancia realizar un buen diagnóstico diferencial ya que lo observado en la

endoscopia puede ser similar a otras patologías como tumores submucosos o cáncer gástrico<sup>15</sup>.

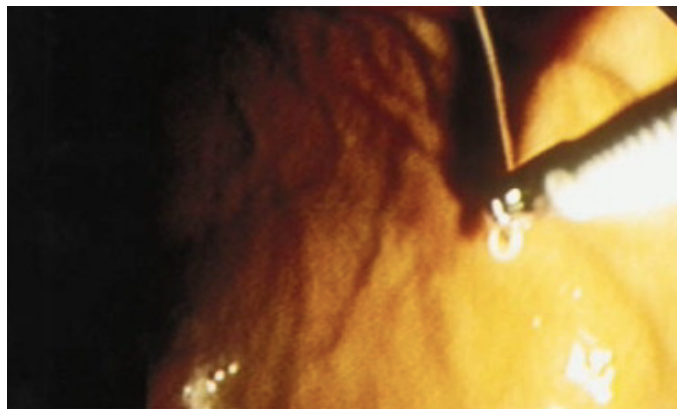
- En el caso de pacientes con **anisakidosis intestinal**, no es útil la endoscopia ya que las lesiones causadas no son accesibles mediante esta técnica. En este tipo de anisakidosis el diagnóstico se hace a través de la cirugía que permite la detección directa de la larva e incluso la posterior realización de un examen histológico<sup>26</sup>.

Además de las alternativas comentadas anteriormente, en la actualidad, la mejor opción para diagnosticar la anisakidosis son los alérgenos recombinantes Ani s 1 y Ani s 7 debido a la sensibilidad y especificidad de estos análisis. El fragmento Ani s 7 se considera marcador del contacto previo con larvas de *Anisakis*. Estos marcadores (Ani s 1 y t-Ani s 7) son utilizados en la actualidad en un kit ELISA, que está comercializado con el nombre de Trisakis 170®<sup>27</sup>.

Aunque estos análisis se caracterizan por una elevada sensibilidad y especificidad, estudios recientes demuestran que el 17,9% de los pacientes AGA y el 57,5% de los pacientes UC+ fueron negativos a Ani s 1; y el 7,1% de los pacientes AGA y el 7,5% de los pacientes UC+ fueron negativos a Ani s 7<sup>28</sup>. Por tanto, se deben buscar métodos de diagnóstico más sensibles.

## 1.5. Tratamiento.

En países como Japón, el tratamiento consiste en extraer la larva con pinzas en los casos en los que es posible realizar una endoscopia<sup>29</sup>.



**Figura 6.** Extracción mediante gastroscopia de *Anisakis spp.*<sup>14</sup>.

No obstante, en España al ser mayoritariamente pacientes con AGA, no se puede realizar endoscopia y el tratamiento es sintomático<sup>29</sup>. Los fármacos que más se utilizan para controlar la sintomatología de la enfermedad son antibióticos, antihistamínicos y corticoides. Los corticoides se emplean en caso de clínica obstructiva o de reacciones alérgicas ya que, además de reducir la sintomatología, disminuyen la inflamación local facilitando el tránsito y evitando, en ocasiones, la necesidad de intervención quirúrgica. Además, se utilizan fármacos intramusculares como la adrenalina para evitar el shock anafiláctico y/o urticaria<sup>30,31</sup>.

Uno de los tratamientos más usados y efectivos últimamente es el uso de albendazol de 400 mg vo cada 12 horas durante 3 a 21 días, aunque no existe una gran cantidad de datos sobre esto<sup>32</sup>.

Como se ha comentado anteriormente, las larvas no tienen la capacidad de sobrevivir mucho tiempo en el cuerpo humano por lo que en general no se dan complicaciones y se considera una enfermedad con buen pronóstico<sup>2</sup>.



## **2. OBJETIVOS.**

### **2.1. Objetivo general.**

El objetivo principal de este trabajo fin de grado es realizar una revisión sistemática sobre los efectos de los antígenos de *Anisakis* spp. en la respuesta inmunitaria del ser humano.

### **2.2. Objetivos específicos.**

2.2.1. Describir los componentes implicados en la respuesta inmune del ser humano a *Anisakis* spp.

2.2.2. Identificar los mecanismos en los que estos están implicados cuando se produce una infección por *Anisakis* spp.

2.2.3. Determinar las características fundamentales de la respuesta alérgica contra *Anisakis* spp y sus diferencias con una infección común.

2.2.4. Identificar cómo diferentes células del sistema inmune son reguladas por los antígenos larvarios de *Anisakis* spp.



## **3. MÉTODOS.**

### **3.1. Diseño.**

Se ha realizado una revisión sistemática acerca de la literatura existente sobre el papel inmunomodulador de los antígenos de las larvas de *Anisakis* spp. en humanos, así como los mecanismos implicados en la respuesta inmunitaria provocada tras la ingesta de las larvas del parásito.

### **3.2. Estrategia de búsqueda.**

Tras la identificación del tema de estudio, se realizó la búsqueda bibliográfica a través de la base de datos de MEDLINE (a través del buscador PubMed). Además, también hemos utilizado otras bases de datos, SCOPUS y Embase.

Para la realización de la búsqueda, lo primero que hemos hecho ha sido determinar las palabras clave para la correcta búsqueda, en este caso, la ecuación booleana ha sido la siguiente: "Anisakis/immunology".

### **3.3. Criterios de selección.**

Con el fin de realizar una correcta selección de la información para esta revisión sistemática se han utilizado una serie de criterios de inclusión y exclusión: se ha aplicado el filtro de "humans" ya que únicamente nos interesan estudios en humanos, quedando excluidos los que no son en humanos. También se han excluido los artículos en idioma distinto al castellano e inglés y se han podido tener en cuenta solo aquellos a los que hay acceso libre. Una vez tuvimos el resultado de la búsqueda con los filtros, se realizó una selección de artículos por título y resumen, descartando aquellos que no estaban relacionados con el tema de estudio. Por último, se seleccionaron los artículos que contenían información relevante sobre la respuesta inmune del ser humano a los antígenos larvarios de anisakis.

### **3.4. Consideraciones éticas.**

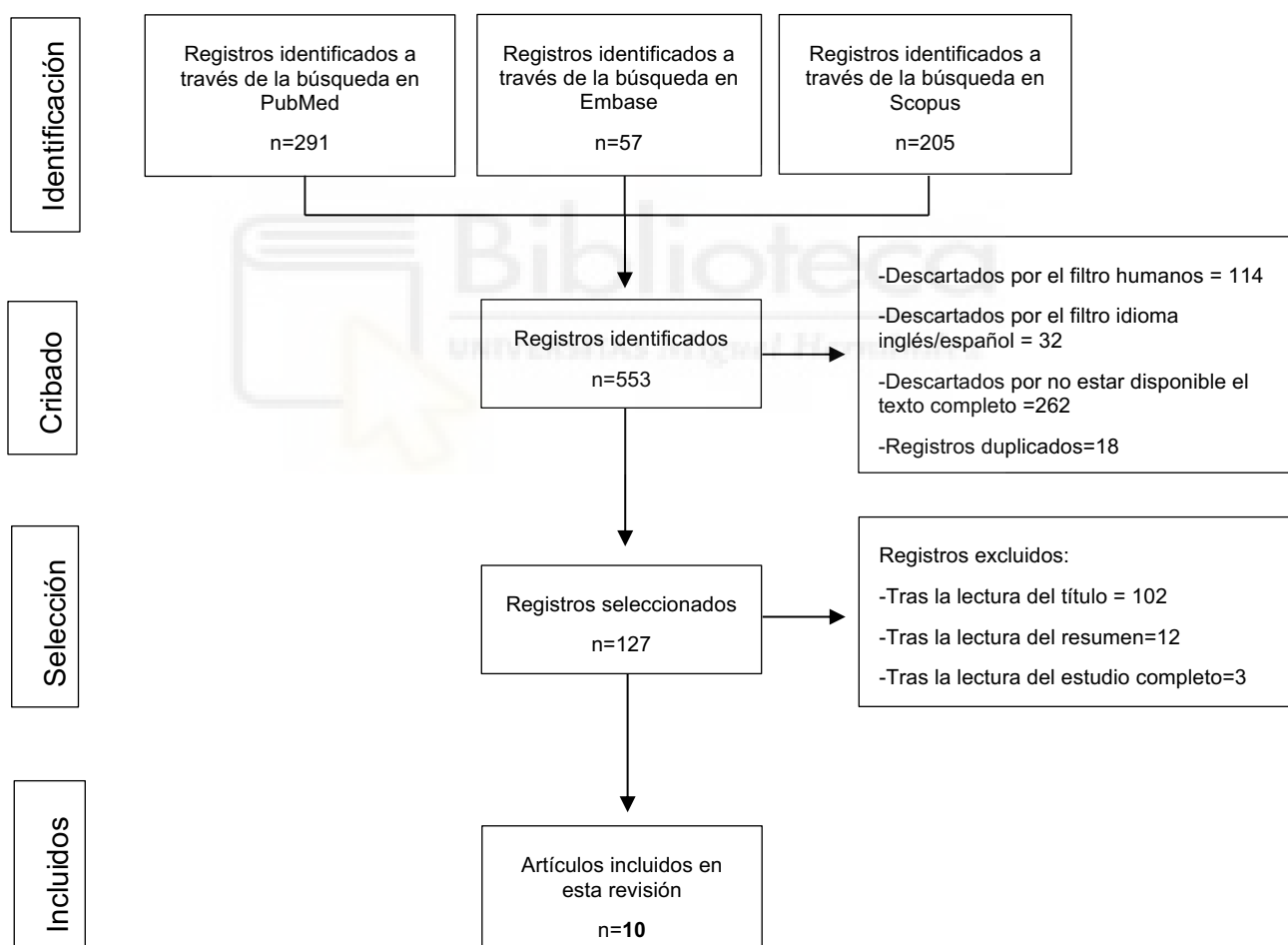
Este TFG ha sido autorizado por la Oficina de Investigación Responsable de la UMH con el código de aprobación TFG.GFA.LAS.MSR.230412.



## 4. RESULTADOS.

### 4.1. Resultados de la búsqueda.

Tras realizar la búsqueda con el descriptor y calificador “Anisakis/immunology”, se encontraron 291 en la base de datos MEDLINE a través del buscador Pubmed, 57 resultados en Embase y 205 resultados en Scopus. Una vez realizado el cribado con los criterios de inclusión y exclusión, se obtuvieron 127 artículos de los que, tras la lectura del título, resumen y texto completo, se obtuvieron 10 artículos para la realización de esta revisión sistemática.



**Figura 7.** Identificación, cribado y selección de estudios incluidos en esta revisión.

## 4.2. Respuesta inmune frente a Anisakis.

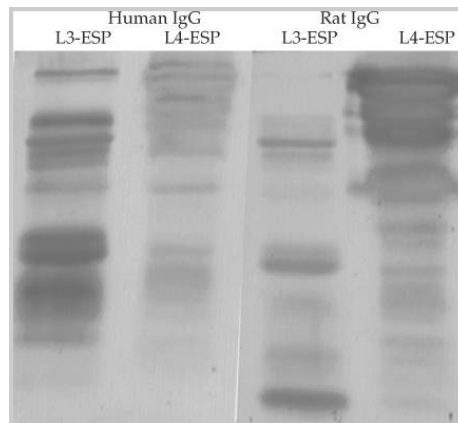
Cuando se produce por primera vez una exposición a un helminto como el anisakis se produce una respuesta inflamatoria que se caracteriza por el reclutamiento de células inflamatorias como eosinófilos y cambios en el torrente sanguíneo, todo esto propiciado por la activación del sistema del complemento y la degranulación de los mastocitos<sup>10</sup>. En general, las respuestas inmunes a los nemátodos intestinales están asociadas con las citoquinas Th2, la liberación de mastocitos que estas produce, la respuesta IgE y la eosinofilia<sup>14,34</sup>.

Tiempo después de la ingestión	Evento(s) de infección	Factores liberados o respuesta inmunitaria	Eventos de tejidos
<1 h	adherencia mucosa	Enzimas proteolíticas	Lesiones hemorrágicas; excavación de gusanos y formación de túneles
4 h a 6 días	Penetración de la mucosa y la submucosa	Factores quimiotácticos	flemón eosinofílico; lesiones erosivas
7-14 días	Formación de granuloma	Inducción de la respuesta de hipersensibilidad	Lesiones ulcerosas
>14 días	Muerte larvaria	Inflamación persistente o granuloma	Pérdida de parásitos o ulceración crónica alrededor de los restos

**Tabla 2.** Evolución temporal de la infección por *Anisakis* spp.<sup>34</sup>

A pesar de la deferencia entre humanos y ratones, se sabe que la infección por L3 de animales de experimentación puede reproducir en parte a la respuesta humana ayudando a comprender los mecanismos inmunitarios y alérgicos en la anisakiasis en humanos ya que se ha demostrado que las respuestas son comparables en ambas especies<sup>35</sup>.

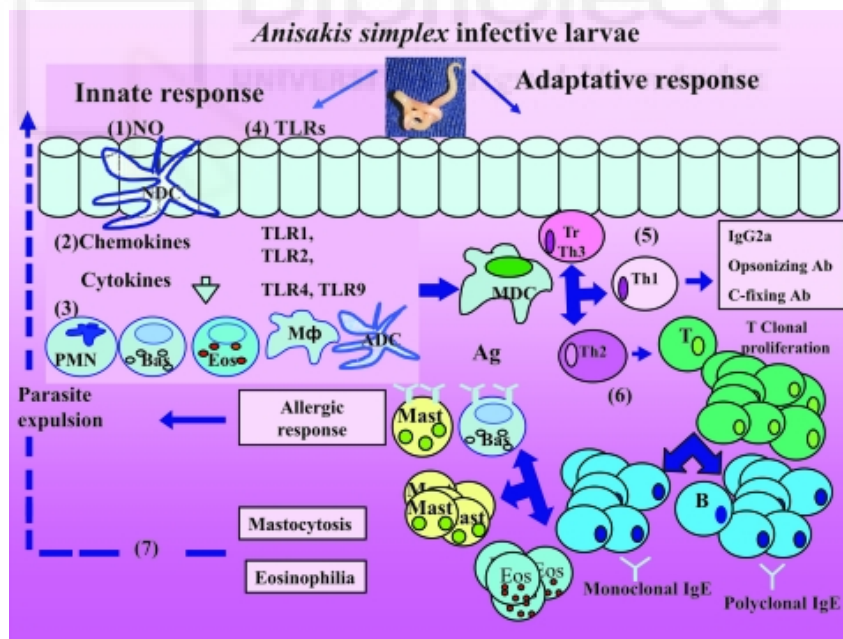
No obstante, no se puede extrapolar directamente la respuesta inmune en animales al ser humano<sup>34</sup>. Las larvas L3 han demostrado ser las que tienen más propiedades antigénicas<sup>14,35</sup>. Además, resultan más patógenas en el caso de estar vivas, aunque también pueden causar una sensibilización estando congeladas o cocinadas<sup>36</sup>. Los sueros humanos (IgG) mostraron la banda de antígeno visualizada con una intensidad más fuerte en L3-ESP. Los sueros de ratas (IgG) mostraron lo contrario (ver Figura 8). Sin embargo, la mayoría de las bandas de antígenos se localizaron de manera similar entre los sueros humanos y los sueros de ratas<sup>35</sup>.



**Figura 8.** Las bandas de antígenos de L3-ESP y L4-ESP localizadas tanto con sueros de anisakiasis humana como con sueros de ratas infectadas con larvas L3 de *Anisakis simplex*<sup>35</sup>.

#### 4.2.1. Respuesta inmune innata.

La respuesta inflamatoria inespecífica es mínima en la mayoría de los casos, pero, en ocasiones, puede verse aumentada<sup>10</sup>.



**Figura 9.** Respuesta innata y adaptativa provocada por *Anisakis spp.* en el ser humano<sup>34</sup>.

Tras la invasión de *Anisakis spp.* se produce la respuesta inmune innata, las células epiteliales secretan moléculas citotóxicas como NO, quimiocinas y citoquinas (ver Figura 9). Estas atraen por quimiotaxis a leucocitos polimorfonucleares (PMN), macrófagos, basófilos (imprescindibles para el

posterior comienzo de la respuesta Th2) y eosinófilos. Además, esta respuesta innata puede involucrar también TLR de las células epiteliales que contribuyen a la protección contra la infección evitando los mecanismos efectores, y células dendríticas que se consideran el nexo entre la respuesta innata y adaptativa ya que se encargan de presentar el antígeno generando dos respuestas, una Th1 y otra Th2<sup>34,37</sup>.

Existe una interacción entre los mastocitos/basófilos y las células linfoides innatas/Th2 a través de citoquinas específicas. Las células Th2 producen IL-3, que estimula la producción de mastocitos/basófilos. La IL-9 recluta a estos mastocitos. Por su parte, los mastocitos producen IL-33, que activa las células linfoides innatas e IL-4, que induce la diferenciación de células Th2. Esta interacción entre los dos módulos del sistema inmunitario contribuye a la propagación de la respuesta inmune cuando existe algún alérgeno del *Anisakis* spp.<sup>38</sup>.

#### **4.2.2. Respuesta inmune adaptativa.**

La inmunidad adaptativa frente a la infección por *Anisakis* spp. está directamente asociada con la producción de IgE como respuesta a los antígenos larvarios de *Anisakis* spp. aunque, como se verá a continuación, también están implicadas las inmunoglobulinas IgM, IgG e IgA<sup>10</sup>.

Los antígenos larvarios de *Anisakis simplex* pueden ser de tres tipos<sup>34,36</sup>:

- a) Antígenos ES: se trata de enzimas proteolíticas que permiten al parásito penetrar en la mucosa. Por ejemplo, el alérgeno Ani s7.
- b) Antígenos somáticos (13-150kDa) como la paramiosina (Ani s2).
- c) Antígenos superficiales implicados en la inflamación crónica.

Cabe destacar que se da una reactividad cruzada en la inmunidad humoral (la respuesta de un antígeno puede reconocer a otro antígeno debido a que tienen parte de los epítomos en común o su estructura tridimensional es semejante). Dos antígenos principales del anisakis, una paramiosina (Ani s 2)

y una tropomiosina (Ani s3) son homólogas a antígenos de otras especies, existiendo reactividad cruzada en la unión de IgE a anisakis, cucaracha alemana, quironómidos y ácaros del polvo<sup>36,39</sup>. La reactividad cruzada se puede reducir con PCA aunque este método solo está en animales de experimentación por el momento<sup>35</sup>.

Structural motif (AllFam Acc.)	Parasite allergens	Plant allergens	Animal allergens (non-helminth)
Tropomyosin (AF054)	Ani s 3, Asc s 3, Bru m 3, Onc v 3, Onc o 3	-	Bla g 7, Blo t 10
Paramyosin (AF100)	Ani s 2, Sch j PM, Sch ma PM	-	Blo t 11, Der f 11, Der p 11

**Figura 10.** Alérgenos de *Anisakis* spp. y su homología con otros animales diferentes a helmintos<sup>40</sup>.

Se ha visto que la IgM aumenta rápidamente en infección primaria y los niveles de IgM específicos alcanzados durante una segunda infección son comparables a la infección primaria. Además, la producción específica de IgM no está relacionada en base a la memoria de sensibilización del antígeno y la avidéz de la IgM no debe aumentar en infecciones secundarias al parásito<sup>35</sup>.

La IgG aparece tras la infección primaria y se mantiene durante aproximadamente 6 meses, por lo que no sirve para saber si la infección es primaria o fue producida en un episodio anterior. Además, la IgG4 ha sido usada como indicador de alergia ya que se une a epítomos reconocidos por la IgE<sup>35</sup>.

Los anticuerpos IgA son secretados a través de la mucosa, evitando que el parásito invada el tracto gastrointestinal<sup>35</sup>.

La IgE cobra un papel fundamental en la alergia a anisakis. Además, se ve aumentada en el caso de infecciones parasitarias. Los niveles de IgE son mayores tras una reinfección que tras una infección primaria<sup>35</sup>. La IgE nos indica que ya ha existido infección, por lo que la alta prevalencia de IgE específica en la población indica que han estado infectados previamente por *Anisakis* spp. aunque no hayan tenido sintomatología<sup>41</sup>. La exposición baja pero continua a las proteínas alergénicas que se da en el caso de la infección por anisakis (normalmente, cada persona se expone a una infección de 1-2 larvas) provoca la generación de IgE, mientras que una alta exposición desencadenará la producción de IgG<sup>14</sup>.

#### **4.2.2.1 Respuesta inmune adaptativa Th1.**

Las citoquinas Th1 (IFN-beta, IL-2 e IL-3) promueven la opsonización de los antígenos, anticuerpos fijadores del complemento y la producción de IgG2a (ver Figura 9)<sup>34</sup>.

#### **4.2.2.2. Respuesta inmune adaptativa Th2.**

La respuesta a anisakis está estrechamente asociada con la respuesta tipo Th2 (ver Figura 9). Es cierto que aún no se conoce el desencadenante directo de esta respuesta, pero parece que la producción temprana de IL-4 influida por basófilos y el daño tisular durante la respuesta inmune innata propicia el inicio de la respuesta Th2<sup>34,37</sup>. Las citoquinas Th2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL10 e IL13) inducen la producción de IgG1, IgA e IgE a través de la estimulación de linfocitos T. Además, la respuesta Th2 y las citoquinas quimiotácticas inducen mastocitosis y eosinofilia local que son responsables de la expulsión del parásito<sup>34,38</sup>. Las citoquinas promotoras de Th2 IL-33 y TSLP se liberan por las células epiteliales tras el daño epitelial. Esta respuesta es la que genera la formación de un granuloma, con deposición de un tejido fibrótico y la formación de células linfocíticas gigantes de cuerpo extraño que, en algunos pacientes desaparecen mientras que en otros duran más tiempo, dándose lo que se llama anisakiasis crónica<sup>38</sup>.

La respuesta Th2 resulta imprescindible para expulsar los parásitos adultos pues es la que organiza los mastocitos, células caliciformes y células no hematopoyéticas que hacen que la luz del intestino no sea habitable para el parásito. Estas citoquinas Th2, además, van a propiciar las reacciones alérgicas<sup>38</sup>.

#### **4.2.3. Respuesta alérgica frente a anisakis.**

Existen muchos estímulos que propician la respuesta alérgica: el parásito vivo, productos excretorios-secretorios y antígenos liberados durante la destrucción del helminto<sup>38</sup>.



Las citoquinas secretadas tras la activación de la respuesta Th2 (IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13) van a actuar promoviendo la hiperplasia celular y la secreción de moco y, en especial la IL-5, va a inducir el reclutamiento de eosinófilos. No obstante, la respuesta alérgica por parte del huésped está constituida por una variedad de mecanismos, cada uno con una función<sup>38</sup>:

- La hiperplasia de queratinocitos y células caliciformes que producen moco se encargan de mejorar la función barrera, restringiendo la entrada, crecimiento y alimentación de los helmintos.
- Los macrófagos activados contribuyen a restringir la propagación del parásito y a reparar los tejidos mediante el depósito de matriz extracelular y la función barrera.
- Los eosinófilos son capaces de participar en la expulsión directa del helminto, sin embargo, la heparina y proteasas de los mastocitos y los basófilos desactivan algunas proteínas. Esta activación de mastocitos y basófilos produce cierta constricción vascular reduciendo así la propagación del parásito.

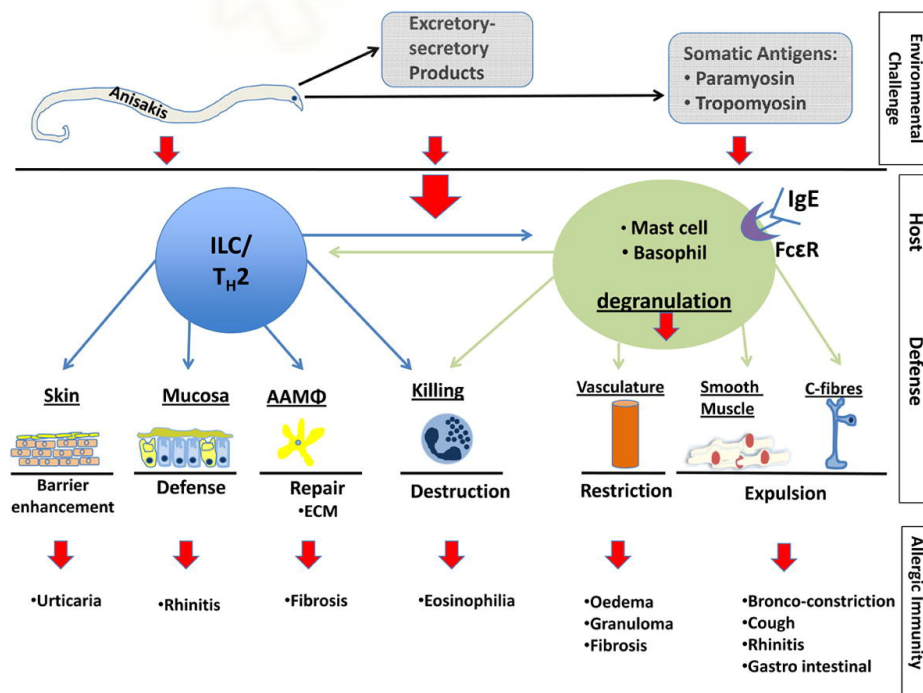


Figura 11. Mecanismos implicados en la respuesta alérgica a *Anisakis* spp.<sup>38</sup>

Esta respuesta inmunitaria desencadena síntomas alérgicos en individuos con contacto previo con *Anisakis* spp. como urticaria, edema, vómitos y dolor abdominal<sup>10,14</sup>.

Las citoquinas Th2, la IgE y la eosinofilia, a pesar de estar asociadas a una respuesta alérgica, en el caso de helmintos como el anisakis, forman parte de la respuesta inmune normal contra estos<sup>10,38</sup>.

El sistema inmune reconoce a *Anisakis* spp. como un helminto infeccioso y como un alérgeno, por tanto, son dos componentes de una misma respuesta. La infección por *Anisakis* spp. no siempre provoca alergia, la alergenicidad depende de la disimilitud con las proteínas humanas, los que más homología tienen, resultan ser los menos alergénicos<sup>40</sup>. Se cree que la alta frecuencia de la respuesta alérgica a anisakis es debido a que los pacientes se exponen a un bajo número de larvas<sup>10,14</sup>.

#### **4.2.4. Regulación de la respuesta inmune del ser humano por parte de Anisakis.**

Los helmintos como el anisakis han sido capaces de regular la respuesta inmune del huésped, evitando una respuesta excesiva y su expulsión. Así, en las infecciones crónicas se producen fuertes respuestas reguladoras, produciendo TGF-beta e IL-10 que facilitan la supervivencia del parásito y suprimen respuestas inmunitarias excesivas<sup>10</sup>.

##### **4.2.4.1. Regulación de la respuesta inmune a anisakis por las células dendríticas.**

Las células dendríticas tienen efecto inmunomodulador en una infección por anisakis, estas células son capaces de crear un microambiente inflamatorio (aumento de IL1 $\alpha$  e IL6). Además, en presencia de *A. pegreffi*, la producción de ROS fagosómica aumenta haciendo que las CD tengan un comportamiento parecido a los macrófagos<sup>37</sup>.

La larva induce, como en el caso de la mayoría de los helmintos, la apoptosis, diferenciación y maduración de las CD y se reduce la capacidad de estas para migrar al ganglio linfático. El microambiente generado por las CD hace que se mantenga la diferenciación hacia Th, pero se bloquea la diferenciación de Th1, reduciéndose la respuesta de los linfocitos T INF  $\gamma$ . Las CD que se encuentran en los tejidos alistan la quimiocina CCL3 que favorece el reclutamiento de leucocitos mientras se forma el granuloma y favorecen la producción de IL4 que, junto con IL6, dirige la diferenciación de los linfocitos T hacia linfocitos Th2<sup>37</sup>.

Además, la IL10 que secretan las CD disminuye en presencia de la larva viva. Las citoquinas proinflamatorias IL1 $\alpha$  y IL6 aumentan significativamente con la presencia de larvas de *Anisakis* spp.<sup>34,37</sup>.



## 5. DISCUSIÓN.

La anisakidosis es una infección transitoria pues el parásito no tiene capacidad para vivir y completar su ciclo en ser humano. Por ello, aunque existan casos en los que la anisakidosis cronifica, esta suele ser una infección de corta duración<sup>34</sup>.

La respuesta inmune a *Anisakis* spp. se caracteriza por una temprana respuesta innata y una respuesta adaptativa. En general, la respuesta innata resulta leve salvo en casos excepcionales<sup>10,42</sup>. Como en el caso de otras infecciones por nematodos, la anisakidosis está íntimamente relacionada con la respuesta Th2, producción de IgE y eosinofilia<sup>14,34</sup>. Cabe destacar que, en el caso de *Anisakis* spp., el propio parásito es capaz de regular la respuesta inmune que genera el ser humano para expulsarlo, reduciendo respuestas excesivas. Un ejemplo de esto es el aumento de producción de TGF-beta<sup>10,43</sup>.

La respuesta innata temprana está constituida por mecanismos para promover la expulsión del parásito como la secreción de NO por parte de las células epiteliales, la actuación de macrófagos y leucocitos PMN. Cabe destacar el importante papel de las células dendríticas en esta respuesta ya que, además de ser células presentadoras de antígenos (APC), sirven de nexo entre la respuesta innata y la respuesta adaptativa<sup>37</sup>.

La respuesta adaptativa a *Anisakis* spp. está asociada principalmente a la producción de IgE, que está provocada por una exposición baja pero continua a las proteínas alérgicas de *Anisakis* spp. e indica que ha existido una infección previamente<sup>14,41</sup>. Además, también están implicadas otras inmunoglobulinas como la IgM, la Ig G y la IgA, que aparecen tras la respuesta primaria y evitan la invasión del tracto gastrointestinal por parte del parásito<sup>35</sup>. Estos anticuerpos se producen como respuesta a las larvas L3 de *Anisakis* spp., cuyos antígenos pueden ser ES, somáticos o superficiales y los más estudiados son Ani s 2 y Ani s 3 que, al ser homólogos con otras especies de animales, pueden provocar una reactividad cruzada en la unión a IgE<sup>36,39,44</sup>. Para reducir esta reactividad cruzada, se ha visto que el PCA es un buen candidato<sup>35</sup>.

Dentro de la respuesta adaptativa se pueden distinguir dos respuestas distintas: la Th1, notablemente menos común y relacionada con la

susceptibilidad a la infección, y la Th2, más estrechamente asociada con la expulsión de *Anisakis* spp. Se cree que el desencadenante de esta respuesta Th2 es la producción temprana de IL-4 propiciada por los basófilos y daño tisular producido por las larvas durante la infección temprana<sup>37,45</sup>. Además, citoquinas promotoras de Th2 IL-33 y TSLP se liberan por las células epiteliales tras el daño, que activan las células linfoides innatas y facilitan la maduración de linfocitos T<sup>46,47</sup>. La respuesta Th2 es la principal responsable de la expulsión del parásito organizando algunas células como las caliciformes que hacen que el intestino no sea habitable para el parásito<sup>42</sup>. Aunque no se comprende a la perfección la fuerte respuesta Th2 que se produce en el caso de infección por larvas de *Anisakis* spp.<sup>10</sup>, esta respuesta es la que genera la formación de granulomas que pueden desaparecer o no y cuya función es mantener un estado de inflamación debido al reclutamiento de macrófagos, producido cuando el sistema inmune no ha sido capaz de eliminar al parásito<sup>38</sup>.

Por otro lado, una de las características destacables de *Anisakis* spp. es el elevado número de casos de reacciones alérgicas que produce<sup>10,14</sup>. La alergenicidad de los antígenos larvarios de *Anisakis* spp. depende de diversos factores, principalmente, de la disimilitud con las proteínas humanas<sup>40</sup>. Además de esto, se ha visto que otro factor que explica la elevada frecuencia de las reacciones alérgicas a *Anisakis* spp. es el hecho de que habitualmente los pacientes se exponen a entre una o dos larvas<sup>10,14</sup>. La respuesta Th2 también está implicada en la respuesta alérgica y, en especial, la IL-5 es la encargada del reclutamiento de los eosinófilos. Además, la hiperplasia celular y la activación de los macrófagos son también mecanismos de la respuesta alérgica al parásito<sup>38</sup>.

En el caso de *Anisakis* spp., la respuesta Th2, IgE y la eosinofilia forman parte de la infección normal contra el parásito, además de formar parte de la respuesta alérgica, por lo que se ha discutido mucho sobre si infección y alergia forman parte de la misma respuesta o deben ser diferenciadas<sup>10,38</sup>. Algunos autores como Álvaro Daschner *et al.*, defienden la importancia de separar ambas respuestas, apoyándose en las evidentes diferencias entre los síntomas que produce una respuesta u otra<sup>14</sup>. Otros autores, posteriormente, llegaron a la conclusión de que se trata de dos componentes de la misma respuesta<sup>40</sup>.

En la regulación que produce *Anisakis* spp. en nuestro sistema inmune, cobran especial importancia las células dendríticas que son capaces de crear un microambiente inflamatorio, siendo comparable su función a la de los macrófagos. Este microambiente inflamatorio creado es el responsable del bloqueo de la diferenciación Th1, favoreciendo así la respuesta Th2 propia de este parásito e implicada en su expulsión<sup>37</sup>.

Además, también se ha visto que en presencia de la larva de *Anisakis* spp. aumentan las citoquinas proinflamatorias y se reduce la secreción de citoquinas como la IL-10, inhibidora de la síntesis de citocinas, lo que se traduce en un aumento de la síntesis de citocinas proinflamatorias. A pesar de esto, algunos estudios afirman que, en general, como regulación de la respuesta a nematodos, se suele producir un aumento de IL-10<sup>10,34,37</sup>.

En conclusión, las células dendríticas son de vital importancia para mantener un estado de inflamación desde el comienzo de la infección por *Anisakis* spp., lo que bloquea la diferenciación Th1 y favorece la diferenciación Th2 implicada, como se ha comentado, en la expulsión del parásito. Asimismo, las CD tienen un papel fundamental en la inmunomodulación de la respuesta contra el nematodo<sup>34,37</sup>.

## 6. CONCLUSIONES.

Tras la realización de esta revisión sistemática se han podido establecer, de acuerdo con los objetivos fijados, las siguientes conclusiones:

- La respuesta inmune del ser humano frente a la exposición a los antígenos de *Anisakis* spp. está principalmente relacionada con la respuesta Th2, asociada con la expulsión del parásito.
- La respuesta inmune innata se caracteriza por la actuación de mediadores inflamatorios como macrófagos, leucocitos PMN o células dendríticas, encargadas de presentar los antígenos y propiciar la diferenciación de los linfocitos T.
- Las larvas de *Anisakis* spp. son más alergénicas cuanto menos similitud tienen con las proteínas humanas y la alergenicidad se ha asociado también a que, habitualmente, se produce la ingesta de un escaso número de larvas (1-2 larvas).
- Las células dendríticas son claves en la creación de un microambiente inflamatorio, lo que favorece la diferenciación Th2, promoviendo la síntesis de mediadores proinflamatorios y disminuyendo la síntesis de células antiinflamatorias, como la IL-10.
- La respuesta alérgica y la infección por *Anisakis* spp. son considerados dos componentes de la misma respuesta ya que ambos propician la respuesta Th2, la síntesis de IgE y la eosinofilia.
- *Anisakis* spp., como en el caso de otros nematodos, es capaz de regular la respuesta que genera el sistema inmune con el fin de aumentar su supervivencia en el organismo y evitar respuestas excesivas.

## 7. REFERENCIAS.

1. Sprent JFA. Helminth"zoonosis": an analysis. *Helminthological abstracts*. 1969;38(3),333-51.
2. Zamora de la Fuente V. Estudio del papel inmunomodulador de los antígenos larvarios de *Anisakis simplex* [Tesis]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2017.
3. Hochberg NS, Hamer DH. Anisakidosis: Perils of the deep. *Clin Infect Dis*. 2010;51(7):806–12.
4. González Fernández J. Nuevos alérgenos de *Anisakis simplex*: estudios in silico e in vitro [Tesis]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2018.
5. 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.
6. Valiñas B, Lorenzo S, Eiras A, Figueiras A, Sanmartín ML, Ubeira FM. Prevalence of and risk factors for IgE sensitization to *Anisakis simplex* in a Spanish population. *Allergy*. 2001;56(7):667–71.
7. Fernández de Corres L, Pozo MD del, Aizpuru F, Buendía E. 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*. *Alergol inmunol clín*. 2001;337–46.
8. 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(2):271–4.
9. Smith JW. *Anisakis simplex* (Rudolphi, 1809, det. Krabbe, 1878) (Nematoda: Ascaridoidea): morphology and morphometry of larvae from euphausiids and fish, and a review of the life-history and ecology. *J Helminthol*. 1983;57(3):205–24.
10. Nieuwenhuizen NE. Anisakis- immunology of a foodborne parasitosis. *Parasite Immunol*. 2016;38(9):548–57.
11. Smith JW, Wootten R. Anisakis and anisakiasis. *Adv Parasitol*. 1978;16:93–163.



12. Klimpel S, Palm HW, Rückert S, Piatkowski U. The life cycle of *Anisakis simplex* in the Norwegian Deep (northern North Sea). *Parasitol Res.* 2004;94(1):1–9.
13. Sakanari JA. Anisakis - from the platter to the microfuge. *Parasitol Today.* 1990;6(10):323–7.
14. Daschner A, Alonso-Gómez A, Cabañas R, Suarez-de-Parga JM, López-Serrano MC. 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 Clin Immunol [Internet].* 2000;105:176–81.
15. Ishikura H, Kikuchi K, Nagasawa K, Ooiwa T, Takamiya H, Sato N, et al. Anisakidae and anisakidosis. *Prog Clin Parasitol.* 1993;3:43–102.
16. Yokogawa M, Yoshimura H. Clinicopathologic studies on larval anisakiasis in Japan. *Am J Trop Med Hyg.* 1967;16(6):723-8.
17. Park M-S, Kim KW, Ha HK, Lee DH. Intestinal parasitic infection. *Abdom Imaging.* 2008;33(2):166–71.
18. De Nicola P, Napolitano L, Di Bartolomeo N, Waku M, Innocenti P. Su di un caso di anisakiasis con perforazione del cieco [Anisakiasis presenting as perforated ulcer of the cecum]. *G Chir.* 2005;26(10):375-7.
19. Kobayashi A, Tsuji M, Wilbur DL. Probable pulmonary anisakiasis accompanying pleural effusion. *Am J Trop Med Hyg.* 1985;34(2):310–3.
20. Daschner A, Alonso-Gómez A, Caballero T, Barranco P, Suarez-De-Parga JM, López-Serrano MC. Gastric anisakiasis: an underestimated cause of acute urticaria and angio-oedema? *Br J Dermatol.* 1998;139(5):822–8.
21. Lorenzo S, Iglesias R, Audicana MT, García-Villaescusa R, Pardo F, Sanmartín ML, et al. Human immunoglobulin isotype profiles produced in response to antigens recognized by monoclonal antibodies specific to *Anisakis simplex*: Human Ig isotype profiles. *Clin Exp Allergy.* 1999;29(8):1095–101.
22. Ewan PW, Coote D. Evaluation of a capsulated hydrophilic carrier polymer (the ImmunoCAP) for measurement of specific IgE antibodies. *Allergy.* 1990;45(1):22–9.

23. Carballada-Sangiao N, Rodríguez-Mahillo AI, Puente S, Gutiérrez MT, Moneo I, González-Muñoz M. Anisakis/Ascaris IgE ratio improves specificity for the diagnosis of *Anisakis simplex* sensitization in travellers and immigrants. *Acta Trop*. 2014;138:1–4.
24. Akasaka Y, Kizu M, Aoike A, Kawai K. Endoscopic management of acute gastric anisakiasis. *Endoscopy*. 1979;11(2):158–62.
25. Sugimachi K, Inokuchi K, Ooiwa T, Fujino T, Ishii Y. Acute gastric anisakiasis. Analysis of 178 cases. *JAMA*. 1985;253(7):1012-3.
26. Dooley JR, Neafie RC. Pathology of tropical and extraordinary diseases. (Binford, C, Dooner, C.). Armed forces. Inst. Pathol. Washington. USA. 1976.
27. Anadón AM, Romarís F, Escalante M, Rodríguez E, Gárate T, Cuéllar C, et al. The *Anisakis simplex* Ani s 7 major allergen as an indicator of true Anisakis infections. *Clin Exp Immunol*. 2009;156(3):471–8.
28. Cuéllar C, Daschner A, Valls A, De Frutos C, Fernández-Fígares V, Anadón AM, et al. Ani s 1 and Ani s 7 recombinant allergens are able to differentiate distinct *Anisakis simplex*-associated allergic clinical disorders. *Arch Derm Res*. 2012;304(4):283–8.
29. Daschner A, Cuéllar C. The hidden sense of symptoms: urticaria can be beneficial. *Med Hypotheses*. 2010;75(6):623–6.
30. Simons FER, Arduzzo LRF, Bilò MB, El-Gamal YM, Ledford DK, Ring J, et al. World Allergy Organization anaphylaxis guidelines: summary. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(3):587-93.e1-22.
31. Ferrer-Puga, M., García-Abujeta, J.L., y Lopez-SanMartín, M. (2010). Guía urticaria y angioedema (Madrid (España): SEAIC).
32. Moore DAJ, Girdwood RWA, Chiodini PL. Treatment of anisakiasis with albendazole. *Lancet*. 2002;360:54.
33. Ishikura H, Kikuchi K, editores. Intestinal anisakiasis in japan: Infected fish, Sero-immunological diagnosis, and prevention. 1990a ed. Tokio, Japón: Springer; 2012. 31-40.
34. Audicana MT, Kennedy MW. *Anisakis simplex*: From obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. *Clin Microbiol Rev*. 2008;21(2):360–79.

35. Cho S-W, Lee HN. Immune reactions and allergy in experimental anisakiasis. *Korean J Parasitol.* 2006;44(4):271–83.
36. 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 Clin Immunol.* 2008;18(4):253-9.
37. Napoletano C, Mattiucci S, Colantoni A, Battisti F, Zizzari IG, Rahimi H, et al. *Anisakis pegreffii* impacts differentiation and function of human dendritic cells. *Parasite Immunol.* 2018;40(5):e12527.
38. Nieuwenhuizen NE, Lopata AL. Anisakis--a food-borne parasite that triggers allergic host defences. *Int J Parasitol.* 2013;43(12–13):1047–57.
39. Weiler CR. *Anisakis simplex* and cross-reacting antigens. *Int J Dermatol.* 2007;46(2):224–5.
40. Fitzsimmons CM, Falcone FH, Dunne DW. Helminth allergens, parasite-specific IgE, and its protective role in human immunity. *Front Immunol.* 2014;5:61.
41. Pichler WJ. Anisakiasis: immunity, allergy or both? Lessons on the natural role of immunoglobulin E from a nematode infestation. *Clin Exp Allergy.* 1999;29(9):1161–3.
42. Meeusen EN, Balic A. Do eosinophils have a role in the killing of helminth parasites? *Parasitol Today.* 2000;16(3):95–101.
43. Yazdanbakhsh M, van den Biggelaar A, Maizels RM. Th2 responses without atopy: immunoregulation in chronic helminth infections and reduced allergic disease. *Trends Immunol.* 2001;22(7):372–7.
44. Pascual CY, Crespo JF, San Martin S, Ornia N, Ortega N, Caballero T, et al. Cross-reactivity between IgE-binding proteins from *Anisakis*, German cockroach, and chironomids. *Allergy.* 1997;52(5):514–20.
45. Hammad H, Plantinga M, Deswarte K, Pouliot P, Willart MAM, Kool M, et al. Inflammatory dendritic cells--not basophils--are necessary and sufficient for induction of Th2 immunity to inhaled house dust mite allergen. *J Exp Med.* 2010;207(10):2097–111.
46. Oyoshi MK, Larson RP, Ziegler SF, Geha RS. Mechanical injury polarizes skin dendritic cells to elicit a T(H)2 response by inducing cutaneous thymic

stromal lymphopoietin expression. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(5):976–84, 984.

47. Soumelis V, Reche PA, Kanzler H, Yuan W, Edward G, Homey B, et al. Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP. *Nat Immunol.* 2002;3(7):673–80.

