

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



ESCUELA DE DOCTORADO DE LA UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

DOCTORADO EN MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD.

TESIS DOCTORAL

**PREVALENCIA DE SENSIBILIZACIÓN AL *ANISAKIS SIMPLEX*
EN CANTABRIA Y UTILIDAD DEL DIAGNÓSTICO POR
COMPONENTES MOLECULARES EN PATOLOGÍA ALÉRGICA Y
DISPEPSIA**

Presentada por: **LETICIA DE LAS VECILLAS SÁNCHEZ**

Dirigida por: **Dr. PEDRO MUÑOZ CACHO**

Santander, mayo de 2021

A mi hermano,
a mi padre
y a mi MADRE,

que siempre están detrás
para sostenerme
y no dejarme mirar atrás

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es el fruto de un primer proyecto de investigación que se esbozó en la mente de una residente de Alergología y que con el trabajo, la generosidad y los ánimos de un gran grupo de personas, se ha hecho realidad.

No puedo empezar los agradecimientos sin nombrar a los dos grandes impulsores de este trabajo: el Dr. Fernando Rodríguez Fernández y mi madre. Fueron los que prendieron la mecha y los que han mantenido la llama hasta el final.

A mi jefe, Fernando, por confiar en mí y darme la oportunidad de investigar. Su generosidad e infinita paciencia para explicarme todo desde cero han hecho posible este trabajo. Gracias por motivarme y también saber frenarme. Y por tener siempre razón.

A los director de esta tesis, el Dr. Pedro Muñoz Cacho y el Dr. Marcos López Hoyos, por sus ánimos, consejos y correcciones. Por ser tan generosos y poner su sabiduría a mi disposición.

Agradezco enormemente la colaboración del Dr. Florencio Martínez Ubeira porque más allá del fundamental trabajo de analizar las muestras, se implicó en discutir y mejorar parte de este trabajo.

Quiero también dar las gracias al Servicio de Alergología, desde médicos a auxiliares, enfermeras y administrativos. El apoyo y cariño de TODAS han sido fundamentales en este camino. En especial a Marián, Pilar, Chus y Chelo; a mi compañera y amiga Vittoria Montecchiani, por su generosidad y ayuda; y a Eva Morchón, por su inagotable paciencia para escucharme. Gracias a todas por tanto!

Gracias a Raquel Hondal, técnico del laboratorio de Inmunología del HUMV. Su interés y disposición han sido de gran ayuda para desarrollar y facilitar este trabajo.

Una especial mención al Banco de Sangre y Tejidos de Cantabria. Donantes, médicos y enfermería han sido parte clave de este trabajo. Muchísimas gracias!

Y gracias al Servicio de Digestivo del HUMV por querer aportar y colaborar en este proyecto.

No puedo evitar mencionar a mi familia y amigos que han sufrido mis desplantes y ausencias por este trabajo en muchas ocasiones. Agradezco su comprensión y paciencia y que no hayan desistido en ilusionarse con la finalización de este proyecto.

A mi madre y a mi hermano, por su inagotable apoyo durante la realización de este trabajo y el entusiasmo con el que viven todos los proyectos que emprendo. Y a mi padre, por su ejemplo de trabajo y superación.

Pero fundamentalmente, gracias a todos los pacientes y donantes que han colaborado en el estudio. Son una pieza clave para que podamos avanzar e investigar. Sin su participación este trabajo no habría sido posible.

Gracias a todos, no podría haber hecho nada de esto sin vosotros.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	13
1.1 Taxonomía, ciclo biológico e infestación de especies marinas	15
1.2 Prevalencia de sensibilización, medidas preventivas y legislación	20
1.3 Patologías asociadas al <i>Anisakis simplex</i>.....	24
1.3.1 Respuesta inmunitaria frente al <i>Anisakis simplex</i>	24
1.3.2 Patologías asociadas al <i>Anisakis simplex</i>	28
1.4 Antígenos del <i>Anisakis simplex</i>	31
1.4.1 Antígenos de excreción-secreción	32
1.4.2 Antígenos somáticos	33
1.4.3 Antígenos de superficie	33
1.4.4 Reactividad cruzada.....	34
1.5 Métodos diagnósticos.....	35
1.5.1 Diagnóstico de parasitación	36
1.5.2 Diagnóstico inmunoalérgico convencional: prueba cutánea y determinación de IgE a extracto completo.....	37
1.5.3 Diagnóstico inmunoalérgico por componentes moleculares	38
1.5.4 Otras técnicas y determinaciones serológicas.....	40
2. JUSTIFICACIÓN	41
3. HIPÓTESIS	45
4. OBJETIVOS.....	49
4.1 Objetivos principales	51

4.2	Objetivos específicos	51
4.3	Objetivos exploratorios	52
5.	MATERIAL Y MÉTODOS	53
5.1	Diseño del estudio	55
5.2	Sujetos del estudio.....	55
5.2.1	Ámbito del estudio.....	58
5.2.2	Circuito de los sujetos del estudio	58
5.2.3	Procedimiento de confidencialidad.....	59
5.3	Cuestionario de datos demográficos y hábitos de consumo de pescado	59
5.4	Escala de gravedad de las reacciones alérgicas.....	60
5.5	Pruebas diagnósticas convencionales para el diagnóstico de alergia al <i>Anisakis simplex</i>	60
5.5.1	Pruebas cutáneas con extracto completo	60
5.5.2	Detección de IgE específica frente a extracto completo de <i>Anisakis simplex</i> (ImmunoCAP).....	61
5.6	Determinación de IgE específica frente a Ani s 1 y Ani s 7 (Trisakis-170, ELISA)	62
5.7	Determinación de IgE total	63
5.8	Protocolo para la realización de pruebas frente al <i>Anisakis simplex</i>	63
5.9	Pruebas diagnósticas de sensibilización a pescado, <i>Dermatophagoides Pteronyssinus</i> y gamba.....	64
5.10	Procedimientos endoscópicos, cultivo de biopsias y detección de IgG frente al <i>Helicobacter pylori</i>	65
5.11	Procesamiento de datos y análisis estadístico.....	65

6. RESULTADOS: DONANTES DE SANGRE Y PACIENTES ALÉRGICOS.....	69
6.1 Resultado del grupo de donantes de sangre	71
6.1.1 Características demográficas y clínicas	71
6.1.2 Resultados de pruebas diagnósticas convencionales	72
6.1.3 Resultados analíticos de IgE específica frente a Ani s 1 y Ani s 7 en donantes sensibilizados asintomáticos	74
6.1.4 Resultados de IgE específica frente a <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> y gamba en donantes sensibilizados asintomáticos.....	75
6.1.5 Hábitos de consumo de pescado	75
6.2 Resultados del grupo de pacientes alérgicos	77
6.2.1 Características demográficas y clínicas	77
6.2.2 Resultados de pruebas diagnósticas convencionales	80
6.2.3 Resultados de IgE específica frente a Ani s 1 y Ani s 7 en pacientes alérgicos	80
6.2.4 Hábitos de consumo de pescado	81
6.3 Comparación entre datos independientes	83
6.3.1 Diferencias demográficas y de hábitos de consumo entre donantes no sensibilizados y sensibilizados asintomáticos	83
6.3.2 Diferencias demográficas y de hábitos de consumo entre pacientes alérgicos y sensibilizados asintomáticos	85
6.4 Comparación entre datos analíticos.....	87
6.4.1 Pruebas diagnósticas de pacientes alérgicos y donantes sensibilizados asintomáticos.....	87

6.4.2	Distribución por clases de la IgE específica frente a extracto completo: pacientes alérgicos y donantes sensibilizados asintomáticos.	88
6.4.3	Curvas Característica Operativa del Receptor e Índice de Youden: IgE específica frente a extracto completo, Anis 1 y IgE-Anis 7	89
6.4.4	Correlaciones analíticas: tiempo entre reacción y determinación analítica, atopia y sensibilización a <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> y gamba.	92
6.5	Comparación entre datos analíticos y variables independientes.....	94
6.5.1	Pruebas diagnósticas y síntomas de la reacción alérgica.....	94
6.5.2	Pruebas diagnósticas y gravedad de la reacción alérgica	95
7.	RESULTADOS: PACIENTES CON DISPEPSIA CRÓNICA ...	101
7.1	Características demográficas.....	103
7.2	Características clínicas y antecedentes de atopia.	103
7.3	Hallazgos endoscópicos y estudio de infección por <i>Helicobacter pylori</i>	104
7.4	Resultados de las pruebas diagnósticas convencionales.....	105
7.5	Resultados de IgE específica frente a Anis 1 y Anis 7	106
7.6	Comparación de pruebas diagnósticas: dispepsia, alergia y sensibilización asintomática.....	108
7.7	Relación entre resultados diagnósticos <i>in vitro</i> , hallazgos endoscópicos y <i>Helicobacter pylori</i>	109
7.8	Hábitos de consumo de pescado	110
8.	DISCUSIÓN	113
8.1	Prevalencia de sensibilización al <i>Anisakis simplex</i> en Cantabria.....	115
8.2	Factores demográficos y hábitos de consumo relacionados con el desarrollo de sensibilización en la población de Cantabria	115

8.3 Factores demográficos y hábitos de consumo relacionados con el desarrollo de sensibilización clínicamente relevante	116
8.4 Hipersensibilidad al <i>Anisakis simplex</i> , una “gastro-alergia” grave	117
8.5 Baja especificidad de la prueba cutánea.....	118
8.6 Rentabilidad diagnóstica para diferenciar entre sensibilización asintomática y alergia.....	119
8.7 IgE a extracto completo: optimización del punto de corte para una mayor precisión diagnóstica.....	120
8.8 Patrón de sensibilización a componentes moleculares: Ani s 1 mayor correlación clínica que Ani s 7.	121
8.9 Influencia de la reactividad cruzada y el tiempo entre reacción y determinación analítica	123
8.10 IgE a extracto completo y Ani s 1 como indicadores de gravedad en la alergia al <i>Anisakis simplex</i>	126
8.11 Sensibilización al <i>Anisakis simplex</i> en dispepsia crónica: papel del Ani s 7	128
8.12 Limitaciones de estudio	129
9. CONCLUSIONES.....	131
10. BIBLIOGRAFÍA.....	135
11. ANEXOS	155
11.1 Aprobación Comité Ético de Investigación Clínica de Cantabria	157
11.2 Consentimiento informado: grupo de pacientes alérgicos y grupo de pacientes con dispepsia.....	159
11.3 Hoja de información al paciente: grupo de donantes.....	160
11.4 Consentimiento informado: grupo de donantes.....	161

11.5 Cuaderno de recogida de datos	162
11.6 Curvas Característica Operativa del Receptor.....	163
11.6.1 IgE específica a extracto completo (ImmunoCAP) para el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante	163
11.6.2 IgE específica frente al alérgeno recombinante Ani s 1 (ELISA, Trisakis-170) para el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante	166
11.6.3 IgE específica frente al alérgeno recombinante Ani s 7 (ELISA, Trisakis-170) para el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante	169
11.6.4 IgE específica a extracto completo (InmunoCAP) en el diagnóstico de anafilaxia	172
11.6.5 IgE específica frente al alérgeno Ani s 1 (ELISA, Trisakis-170) en el diagnóstico de anafilaxia.....	174
11.7 Tablas de puntos de corte según sensibilidad y especificidad fijas	176
11.7.1 IgE específica a extracto completo (ImmunoCAP) para el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante	176
11.7.2 IgE específica frente al alérgeno recombinante Ani s 1 (ELISA, Trisakis-170) para el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante	176
11.7.3 IgE específica frente al alérgeno recombinante Ani s 7 (ELISA, Trisakis-170) para el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante	177
11.7.4 IgE específica a extracto completo (InmunoCAP) en el diagnóstico de anafilaxia	177
11.7.5 IgE específica frente al alérgeno Ani s 1 (ELISA, Trisakis-170) en el diagnóstico de anafilaxia.....	178
11.8 Producción científica	179

11.8.1 Artículos originales.....	179
11.8.2 Comunicaciones en congresos internacionales.....	179
11.8.3 Comunicaciones en congresos nacionales	179
11.9 Abreviaturas.....	181
11.10 Índice de tablas	183
11.11 Índice de figuras	187

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 TAXONOMÍA, CICLO BIOLÓGICO E INFESTACIÓN DE ESPECIES MARINAS

El *Anisakis simplex* es una especie de parásito nemátodo ascaroideo de la familia Anisakidae, orden Ascaridida, del género *Anisakis* (Integrated Taxonomic Information System on-line database [04/13/2020], <http://www.itis.gov>).

Dentro de esta familia, las larvas de los géneros *Anisakis*, *Pseudoterranova* y *Contracaecum* son los más frecuentemente relacionados con el desarrollo de patología en humanos. Sin embargo, el género *Anisakis* ha demostrado ser el más prevalente en las especies de pescado de la costa noroeste del océano Atlántico, incluyendo en nuestro país la costa del mar Cantábrico, Asturias y Galicia (Mattiucci et al., 2008) (Figura 1).

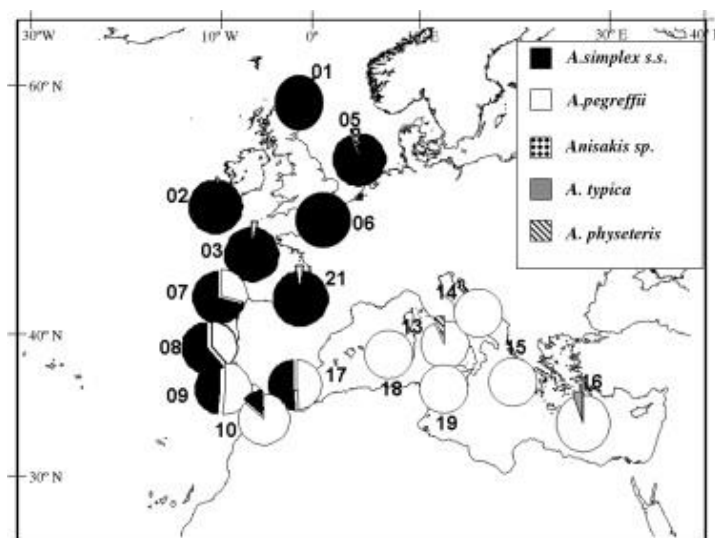


Figura 1. Distribución geográfica de las diferentes especies de *Anisakis* (Mattiucci et al., 2008).

Se han descrito hasta 10 especies dentro el género *Anisakis* pero las más relevantes desde el punto de vista alimentario y como causa de diferentes cuadros patológicos en humanos

son el *Anisakis simplex s.s. (sensu stricto)*, *Anisakis pegreffii* y *Anisakis berlandi* (M. Teresa Audicana & Kennedy, 2008; Llorens et al., 2018; Mattiucci et al., 1997, 2008) siendo la primera de ellas la de mayor impacto clínico en nuestra región por su abundante presencia en las especies de pescados de la costa cantábrica.

Morfológicamente, el *Anisakis simplex s.s.* (al que nos referiremos como *Anisakis simplex* en el resto del trabajo) se puede observar a nivel macroscópico como un cuerpo cilíndrico no segmentado, blanquecino, dispuesto en espiral en la musculatura de peces y cefalópodos, ya que mide entre 2-3 cm en su estadio larvario L3. Estructuralmente se diferencia en tres regiones: una anterior, una ventral y otra caudal (Ishii et al., 1989; Smith, 1983). En la región anterior se localiza una boca triangular con un diente anteroventral, que facilitará que la larva se adhiera a la pared del tubo gastrointestinal del hospedador. Éste se encuentra rodeado de tres protuberancias labiales (dos subventrales y una dorsal) entre las que se sitúa el poro excretor, a través del cual la célula excretora libera las proteasas que permitirán a la larva penetrar la mucosa gastrointestinal (Grabda, 1976). La ventral o región del tubo digestivo, se compone por un esófago muscular seguido por uno glandular y el intestino. La región caudal, de forma cónica, está formada por una espina o mucrón de punta corta rodeada de las glándulas rectales.

El ciclo biológico del *Anisakis simplex* se inicia y completa en el tubo digestivo de mamíferos marinos, fundamentalmente cetáceos (delfines, ballenas, cachalotes, etc.) y en menor frecuencia, pinnípedos (como focas o leones marinos) y aves ictiófagas (Figura 2). En estadio adulto (L4), las larvas se adhieren a su mucosa gástrica formando úlceras crateriformes y posteriormente los huevos no embrionados de *Anisakis simplex* son expulsados al mar a través de las heces de sus hospedadores. A una temperatura del agua de entre 5°C y 7°C, los huevos eclosionan liberando a la larva que ha madurado de estadio

L1 a L2, en la que ya se aprecia la formación del diente anteroventral. En esta forma de estadio L2, las larvas pueden sobrevivir hasta 7 semanas en aguas frías (Hochberg & Hamer, 2010; Smith, 1983). Es en ese momento en el que pequeños crustáceos planctónicos se convierten en hospedadores intermediarios en los cuáles el parásito pasa de estadio L2 a L3. Posteriormente, estos crustáceos son ingeridos por peces y grandes cefalópodos, convirtiéndose en hospedadores paraténicos: meros transportadores de las larvas en estadio L3 (infectantes), las cuáles migran hasta sus vísceras y musculatura adyacente. Si seguimos el ciclo biológico natural del *Anisakis simplex*, los peces y cefalópodos parasitados serían ingeridos por grandes mamíferos marinos (hospedador definitivo) pasando las larvas de estadio L3 a L4, y liberándose sus huevos al mar, reiniciándose así el ciclo vital (Ishikura et al., 1993; Nagasawa, 1990). Sin embargo, si es el ser humano el que consume a los hospedadores paraténicos, éste se convierte en hospedador accidental donde las larvas no pueden evolucionar de estadio pero sí tienen la capacidad de desarrollar cuadros patológicos: infecciosos y/o alérgicos. Al no poder sobrevivir en nuestro organismo, las larvas de *Anisakis simplex* son expulsadas en un periodo máximo de 14 días (Køie et al., 1995).

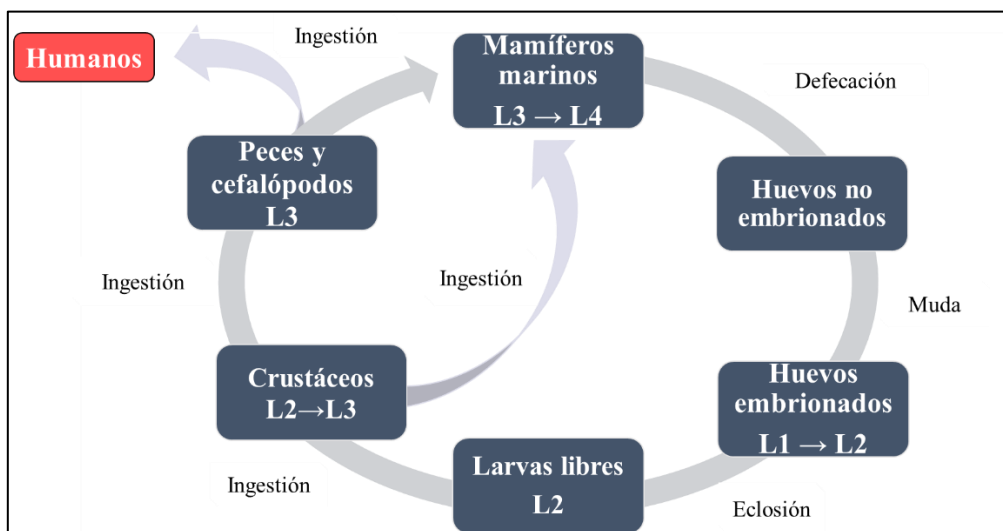


Figura 2. Ciclo vital del *Anisakis simplex* (adaptada de Audicana et al., 2002).

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) en un informe emitido en 2010 (Panel & Biohaz, 2010), hacía referencia a que “ninguna especie de pescado salvaje de mar puede considerarse libre de *Anisakis*”. Dentro de las de piscifactorías tampoco se puede asegurar debido a que el engorde de especies como el salmón, se realiza en aguas marinas, donde pueden ingerir hospedadores intermedios (Mo et al., 2014). Desde luego, afirmaciones tan proteccionistas y conservadoras como la de la EFSA, hacen vislumbrar el problema de salud pública que el *Anisakis simplex* supone (Bao et al., 2017; Mazzucco et al., 2018).

Las especies de pescado que se comportan como hospedadores paraténicos, además de transportar las larvas, son reservorios de éstas, aumentando su carga parasitaria según se desarrollan en tamaño e incrementan el consumo de hospedadores intermedios (Adroher et al., 1996). Así, pescados como la merluza, la caballa, el chicharro, la bacaladilla o lirio, el salmonete, el rape o el bacalao, constituyen una fuente importante de larvas infectantes, por su dieta y su desarrollo, siendo la edad y el tamaño del hospedador puntos clave que determinan su potencial infectivo (Figura 3) (Cruz et al., 2007; Mattiucci et al., 2017). Además de estos factores hay que tener en cuenta la localización geográfica, ya que se han descrito importantes diferencias de parasitación de la misma especie de pescado según su procedencia. La merluza, que constituye una de las fuentes más importantes de larvas de *Anisakis simplex*, presenta porcentajes de parasitación que van desde prácticamente el 100% de la merluza del mar Cantábrico al 84% en el océano Atlántico y el 6% de la procedente del mar Mediterráneo (Debenedetti et al., 2019; Herrador et al., 2019; Rello et al., 2009; Valero et al., 2006). Otras especies de pescado, como la anchoa, también presentan diferencias llamativas según su origen, pasando de casi un 19% de infestación en el océano Atlántico a un 8,9% del Mediterráneo (Tabla 1) (Debenedetti et al., 2019). La estación en la que se realice la captura ha demostrado tener relevancia en

la parasitación del pescado con un aumento aparente en los peces recogidos durante los meses de primavera (Herrador et al., 2019). La parte del pescado consumida también influye en el contacto con una mayor cantidad de larvas puesto que su presencia es de aproximadamente el doble en las vísceras respecto a la musculatura (Debenedetti et al., 2019). Dentro de los productos del mar, también los cefalópodos como el pulpo o el calamar pueden actuar como hospedadores paraténicos en los que las larvas de *Anisakis simplex* anidan en su etapa infectiva (Abollo et al., 2001). Sin embargo, los bivalvos como los mejillones, las ostras o los berberechos, quedarían libres de ser parasitados al alimentarse mediante ultrafiltración.

Tabla 1. Prevalencia de larvas de *Anisakis simplex* en diferentes especies de peces analizadas según su origen geográfico (adaptada de Debenedetti et al., 2019).

Especies de pescado	Océano Atlántico	Mar Mediterráneo
	Prevalencia (%)	Prevalencia (%)
Bacaladilla/lirio (<i>Micromesistius poutasou</i>)	77,51	19,13
Merluza (<i>Merluccius merluccius</i>)	84,00	6,00
Merluza americana (<i>Merluccius bilinearis</i>)	59,48	-
Salmonete (<i>Mullus barbatus</i>)	-	3,23
Caballa (<i>Scomber scombrus</i>)	76,43	30,77
Estornino (<i>Scomber japonicum</i>)	19,18	14,29
Chicharro (<i>Trachurus trachurus</i>)	100,00	32,00
Sardina (<i>Sardina pilchardus</i>)	11,43	2,13
Anchoa (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	18,87	9,87
Total	52,90	11,92

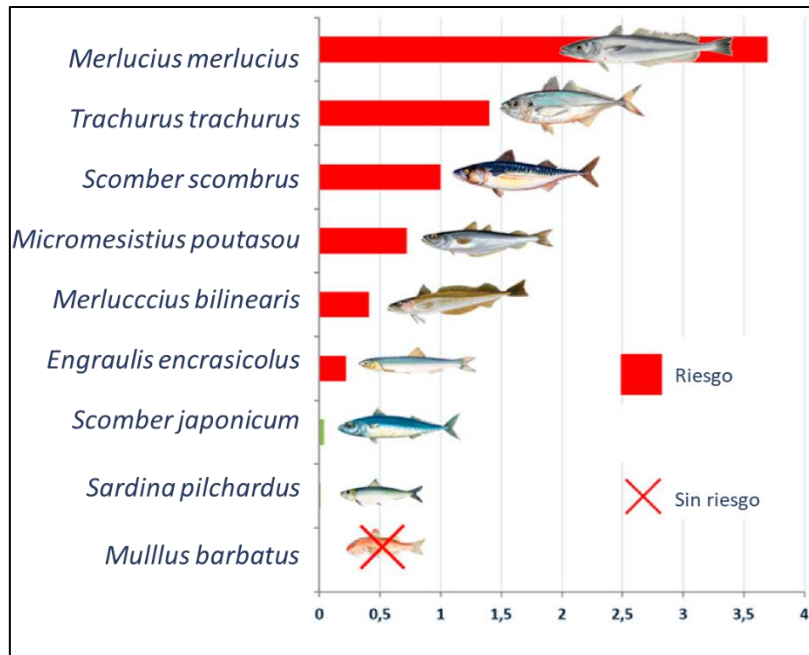


Figura 3. Especies de pescado ordenados por abundancia media (helmintos / huésped) de larvas de *Anisakis simplex* encontradas en su musculatura (adaptada de DeBenedetti et al., 2019).

1.2 PREVALENCIA DE SENSIBILIZACIÓN, MEDIDAS PREVENTIVAS Y LEGISLACIÓN

La prevalencia de sensibilización al *Anisakis simplex* en nuestro país se ha estimado desde un 0,43% en algunas regiones como Galicia (Valiñas et al., 2001) al 12,4%-15% en Madrid (Mara Luisa Caballero et al., 2012; Puente et al., 2008) y un 22% en Antequera (Del Rey Moreno et al., 2006).

Además de los hábitos de consumo de pescado, determinadas profesiones relacionadas con la manipulación de pescado han demostrado ser un factor de riesgo para sensibilizarse al parásito y desarrollar clínica tras contacto con el mismo (Jerončić et al., 2020; Mazzucco et al., 2012).

En cuanto al diagnóstico de alergia al *Anisakis simplex*, también se observan diferencias geográficas en nuestro país en cuanto a su incidencia, principalmente en relación con los

hábitos alimentarios, registrándose la mayor incidencia de casos del país en Cantabria (35/100.000 habitantes) directamente relacionado con el gran consumo de pescado fresco (Bao et al., 2017). En Europa se han llevado a cabo recientemente estudios que identifican sensibilización al *Anisakis simplex* en población general del 0,4 % en Noruega, al 2% en Croacia y 3,86 % de media en Italia con diferencias geográficas del 0,4 al 12,7% dentro del país (AAITO-IFIACI *Anisakis* Consortium, 2011; Mladineo et al., 2014).

En torno al 4,3% de las alergias a alimentos reportadas en España, se estima que son por alergia al *Anisakis simplex* (Ojeda et al., 2018) y en Europa 0,32/100.000 habitantes (INSERM, 2015).

La evisceración de los productos de pesca al mar es una práctica que ha favorecido de manera crucial al incremento de la presencia de *Anisakis simplex* en mares y océanos (Bruschi, 2014). Junto con la popularización de hábitos de consumo de pescado fresco y escasamente cocinado que mantiene vivas a las larvas, ambos han sido factores clave para que los casos de enfermedades producidas por este parásito hayan aumentado de manera exponencial (Audicana & Kennedy, 2008; Audicana et al., 2002; Bruschi, 2014; Daschner et al., 2013; Valiñas et al., 2001), convirtiéndose en un problema de salud pública.

Para evitar que el consumidor entre en contacto con el *Anisakis simplex* en su forma infectiva y alérgica, la EFSA dispone tres medidas fundamentales de aplicación desde la captura del pescado: que la calidad del pescado crudo asegure que está libre de parásitos mediante inspección visual por pescadores y proveedores; en su defecto usar tratamientos fisicoquímicos para erradicarlo; o separar la mercancía parasitada de la no parasitada (Panel & Biohaz, 2010).

Todo ello en consonancia con las guías de salud, programas preventivos y medidas dentro del marco de los Reglamentos emitidos por la Comisión Europea (EC 853/2004 y 1276/2011) en los que se establece la obligatoriedad de una inspección visual del producto

capturado, siguiendo unas normas específicas recogidas en el Reglamento (CE) N° 2074/2005, a fin de evitar la venta al consumidor de material infestado.

En cuanto a los tratamientos para inactivar a las larvas, existen térmicos y químicos.

El primer país europeo que aplicó la congelación del pescado como método térmico para matar al parásito fue Holanda en 1968, introduciendo una ley que obligaba a congelar los arenques previo a su consumo, a -20°C durante las primeras 12 horas tras su captura y mantenerlo 24 horas a dicha temperatura. Posteriormente han sido múltiples los estudios que han corroborado dicha técnica, así como la cocción del pescado a 60°C durante un minuto, llegando a toda la musculatura del pescado (Hochberg & Hamer, 2010). En consecuencia, a nivel europeo existen recomendaciones específicas para consumidores y proveedores, en cuanto a tratamientos térmicos que se recogen en los Reglamentos previamente citados.

En España, el Ministerio de Sanidad y Consumo publicó un Real Decreto (RD 1420/2006, de 1 de diciembre), regulando las medidas en establecimientos de restauración para prevenir la parasitosis a través de los productos de pesca. Las medidas específicas son la obligatoriedad de congelar el pescado a -20°C durante 24 horas o a -35°C durante 15 horas de aquellos productos de consumo crudo, aquellos sometidos a técnicas que no inactiven a las larvas (ahumado en frío, escabeche o salados) o que su cocción no asegure la temperatura central del producto a 60°C. Además, remarca que especies como el arenque, caballa, espadín y salmón (salvaje) del Atlántico o del Pacífico, serán especialmente sensibles a seguir las recomendaciones.

Derivado de dicho RD, la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) emitió en 2016 un informe recogiendo recomendaciones para eliminar la alergenicidad de las larvas mediante técnicas de conservación y preparado. Consideran

seguro preparaciones hervidas y fritas, por alcanzarse temperaturas superiores a los 90 °C y 170 °C, respectivamente. En cuanto a la congelación, se siguen las directrices del RD puntualizando que, además de lo descrito previamente, se debe congelar aquellos preparados que no superen el 9% de sal durante 6 semanas (AESAN, 2016).

Estudios recientes han demostrado que la preparación del pescado con jugos como el limón (ceviche/carpaccio) o el vinagre (escabeche), tardaría en matar a las larvas de *Anisakis simplex* entre cinco y dos días, respectivamente. Sin embargo, tan solo la salazón en seco del pescado inactivaría por completo a la larva. De hecho, no sería necesario congelar pescados sometidos a un salado con un porcentaje mayor del 9% de sal, si se mantienen al menos 6 semanas, lo que implica que las semiconservas, podrían estar exentas de riesgo (AESAN, 2016; Šimat & Trumbić, 2019) (Tabla 2).

Tabla 2. Técnicas de cocinado y productos relacionados con la infestación humana por *Anisakis simplex* (Fuente, Gobierno de Cantabria).

PRODUCTOS RELACIONADOS CON INFESTACIONES HUMANAS

- Pescado insuficientemente cocinado
 - Boquerón en vinagre
 - Pescado ahumado en frío
 - Arenque crudo en salmuera ligera
 - Ceviche: pescado con especias marinado con zumo de limón.
 - Lomi lomi: Salmón marinado con zumo de limón, cebolla y tomate
 - Huevos de salmón
 - Huevas de pescado crudas o prácticamente crudas.
 - Sashimi: Trozos de pescado crudo
 - Carpaccios
 - Sushi: Piezas de pescado crudo con arroz y otros ingredientes
-

En 2014 se estimó en Cantabria un consumo de pescado por persona de más de 23 kilos al año siendo la media nacional de 22,53 kilos por persona y año (https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-tendencias/informe2019_vf_tcm30-540250.pdf). Además, la cultura gastronómica de la región se basa en gran medida en el consumo de pescado fresco sometido a técnicas de escaso cocinado, lo que aumenta la probabilidad de contacto con larvas vivas del parásito en estadio de maduración L3 (Kim et al., 2013; López-Serrano et al., 2000; Rello et al., 2009; Šimat & Trumbić, 2019; Valiñas et al., 2001).

1.3 PATOLOGÍAS ASOCIADAS AL *ANISAKIS SIMPLEX*

1.3.1 Respuesta inmunitaria frente al *Anisakis simplex*

El *Anisakis simplex* es un parásito con capacidad infectiva así como alergénica, es decir, de inducir una respuesta inmune de hipersensibilidad mediada por IgE.

Los mecanismos de defensa del cuerpo humano ante el contacto con parásitos consisten en inducir una respuesta inmune mediada tanto por la vía Th1 como la vía Th2 (Nieuwenhuizen, 2016). Del desequilibrio entre ambas dependen el desarrollo de tolerancia a la parasitación al estimularse una respuesta protectora/inmunomoduladora (Th1); o la producción de IgE específica frente al parásito y el subsecuente desarrollo de síntomas alérgicos tras contactos posteriores.

A pesar de que el *Anisakis simplex* sea un parásito capaz de inducir una intensa respuesta Th2, en estudios *in vitro* se ha demostrado que a diferencia de otros alérgenos alimentarios también produce una respuesta de citoquinas relacionada con la vía Th1 (Baeza et al., 2005) (Figura 4).

Hay factores derivados de las características de la infección, así como factores genéticos de hospedador (Sánchez-Velasco et al., 2000), que influyen en la desviación hacia uno de estos mecanismos inmunes. Se ha comprobado una mayor producción de IgG₄ en parasitaciones a edades tempranas de carácter crónico, mientras que tras cuadros agudos y esporádicos prevalece la producción de IgE específica sin generarse IgG₄ protectora (Daschner et al., 2012; Nieuwenhuizen, 2016). El tipo de helminto también tiene un papel importante ya que los parásitos intestinales favorecen la respuesta Th2. En cuanto a la gravedad de los cuadros clínicos, las parasitaciones más graves inducen una respuesta protectora Th1. El hecho de que el ser humano no sea el hospedador definitivo del *Anisakis simplex* favorece los contactos transitorios: el helminto finalmente morirá y será expulsado excluyéndose así un contacto crónico o prolongado en el tiempo. Además, el afán del parásito por sobrevivir, le hace migrar por los tejidos, produciendo inflamación y aumento del estímulo de la respuesta inmunológica para eliminarlo (Hopkin, 2009). Lo que es un hecho probado es que para producir IgE específica frente al *Anisakis simplex* es necesaria una parasitación activa a través de larvas vivas (M. Teresa Audicana & Kennedy, 2008; Hochberg & Hamer, 2010) en estadio infectivo L3 (Abe & Teramoto, 2014; Sastre et al., 2000). También el desarrollo de cuadros alérgicos graves como anafilaxia y/o anisakiasis gastroalérgica (Llorens et al., 2018; Mazzucco et al., 2018; Panel & Biohaz, 2010), no quedando claramente definido si la sensibilización a alérgenos termoestables del parásito podría estar detrás de cuadros alérgicos leves producidos por larvas muertas en sucesivos contactos (Tejada et al., 2015).

Las larvas vivas de *Anisakis simplex* entran en contacto con la mucosa gastrointestinal e intentan penetrarla provocando una reacción inflamatoria a nivel local. Esta invasión se produce por medio de dos mecanismos: uno físico de anclaje y otro de degradación tisular. La acción mecánica es llevada a cabo por el diente anteroposterior que presentan las

larvas, el cual se une a la mucosa. La acción enzimática tiene lugar a través de las proteasas que libera por el poro excretor y que degradan el tejido permitiendo el paso de la larva a través de la mucosa (Grabda, 1976). Además, estas enzimas tienen un efecto quimiotáctico para eosinófilos. La respuesta inflamatoria local también favorece la aparición de neutrófilos, fibroblastos, macrófagos y células gigantes de reacción a cuerpo extraño, lo que produce en un primer contacto, la formación de granulomas cuya finalidad es la de rodear la larva, impidiendo su migración (Nieuwenhuizen, 2016). En este primer contacto existe además una estimulación de linfocitos T y B, que dentro de un medio desequilibrado hacia la respuesta Th2, induce la producción de IgE específica frente a alérgenos del *Anisakis simplex*, fundamentalmente a las proteasas que excreta el parásito vivo para penetrar la mucosa. Además, se forman infiltrados eosinofílicos en el lugar del contacto, aparece eosinofilia periférica y tiene lugar la estimulación de linfocitos CD4+, productores de IL-4, IL-5 e IL-13, que retroalimentan dicha respuesta (Cooper, 2009). La respuesta de tolerancia inducida por la IgG4 y la IgA se considera bloqueada por la acción de antígenos de excreción-secreción producidos por las larvas vivas al intentar penetrar la mucosa gastrointestinal (Figura 4).

Generalmente la larva es expulsada en pocas horas o días y en ocasiones, la reacción inflamatoria local podría pasar desapercibida sin manifestaciones clínicas agudas. Sin embargo, la sensibilización IgE mediada sí que tiene lugar, lo que induce en posteriores contactos el desarrollo de cuadros alérgicos. Los antígenos del parásito se unirán a IgE específica libre y unida al receptor de alta afinidad de la IgE (FcεRI) de los mastocitos de la mucosa y basófilos de circulación periférica, activándolos con la consiguiente liberación de mediadores que serán los responsables de los síntomas alérgicos.

1.3.2 Patologías asociadas al *Anisakis simplex*

Los cuadros patológicos que el *Anisakis simplex* puede producir en el ser humano se denominan anisakiasis, englobando los infecciosos (parasitosis) y alérgicos. En la literatura se emplean en ocasiones de manera indistinta el término anisakidosis, el cual se corresponde con las enfermedades producidas por cualquiera de las especies que conforman la familia Anisakidae (*Anisakis simplex*, *Pseudoterranova decipiens* y *Contracaecum osculatum*) (Kassai et al., 1988).

Ya en 1970 Van Thiel en Holanda describió cuadros de afectación gastrointestinal debido a la parasitación por *Anisakis simplex*. Pero no fue hasta 1990 cuando se publicó el primer caso de alergia en Japón por Kasuya et al., y en España por Audicana et al. en 1995, poniendo de manifiesto el potencial alergénico del parásito.

Desde entonces se considera que el *Anisakis simplex* cumple todos los requisitos para que el hospedador humano desarrolle una respuesta inmunitaria de tipo Th2.

1.3.2.1 Parasitosis

La larva de *Anisakis simplex* al penetrar la mucosa gastrointestinal produce una reacción inflamatoria a nivel local que se manifiesta como dolor cólico abdominal, obstrucción intestinal, náuseas y/o vómitos. La clínica puede ser de presentación aguda con resolución del cuadro tras expulsarse el parásito; o mantenerse los síntomas de manera crónica generándose granulomas o abscesos secundarios a no haber expulsado todo el material larvario (Nieuwenhuizen, 2016; Toyoda & Tanaka, 2016). En ambas circunstancias, ya sea por inflamación aguda o por la formación de tumoraciones, pueden producirse cuadros oclusivos que requieran intervención quirúrgica urgente para su resolución. Dependiendo de la zona afectada, estaríamos ante cuadros de anisakiasis gástrica, intestinal o gastrointestinal.

El manejo terapéutico más efectivo es la extracción de la larva mediante endoscopia asociando tratamiento sintomático con corticoides y antieméticos. Las pruebas de imagen como la tomografía axial computarizada o la ecografía son de gran utilidad para evitar el manejo de estos cuadros de manera más agresiva con intervenciones quirúrgicas en muchos casos innecesarias al no aportar más que un manejo conservador (Baptista-Fernandes et al., 2017; Kojima et al., 2013; Shibata et al., 2014; Shrestha et al., 2014).

El estímulo inflamatorio crónico también se ha relacionado con el aumento de riesgo de hemorragias secundarias a antiinflamatorios no esteroideos o el desarrollo de patología tumoral (García-Pérez et al., 2015; Montalto et al., 2005; Ubeira et al., 2011).

En ocasiones el *Anisakis simplex* es capaz de migrar desde el tubo digestivo y la cavidad peritoneal a otros órganos como el pulmón, hígado o útero, con manifestaciones clínicas en dichas localizaciones simulando patologías que inicialmente no harían sospechar de la implicación de este parásito. Estos cuadros se corresponderían con la anisakiasis ectópica (Hochberg & Hamer, 2010; Ito et al., 2007).

1.3.2.2 Anisakiasis alérgica/gastroalérgica

Un estudio realizado en el año 2013 en Madrid mostró que hasta un 11,5% de las anafilaxias registradas, se debían al *Anisakis simplex* (Alonso et al., 2013) poniendo de manifiesto la relevancia que este parásito tiene a la hora de evaluar la etiología de cuadros alérgicos relacionados con la ingesta de alimentos. El *Anisakis simplex* es considerado un alérgeno “oculto” por ingerirse de manera desapercibida con el consumo de pescado. En aquellos pacientes sensibilizados (con IgE específica frente al parásito) el contacto con las larvas produce síntomas que van desde los cutáneos como la urticaria y/o angioedema o prurito; respiratorios como el broncoespasmo; digestivos como las náuseas y los

vómitos o la diarrea; a la anafilaxia en los casos más graves (Alonso et al., 2013; Moreno-Ancillo et al., 1997).

Debido a la acción mecánica y enzimática que la larva ejerce para atravesar la mucosa gastrointestinal del ser humano, en el 40% de los cuadros de alergia al *Anisakis simplex*, también se asocian síntomas a nivel local como dolor abdominal, náuseas o vómitos. Estos cuadros mixtos de clínica de hipersensibilidad IgE mediada e inflamación a nivel gastrointestinal son los conocidos como anisakiasis gastroalérgica (Chung & Lee, 2014; Herrador et al., 2019). Generalmente la sintomatología a nivel digestivo precede a los síntomas alérgicos, iniciándose desde minutos a varias horas tras la ingesta del pescado infestado. El diagnóstico viene determinado fundamentalmente por la historia clínica y su confirmación por la visualización del parásito mediante gastro/endoscopia (Shibata et al., 2014). Los corticoides y antihistamínicos o incluso en los casos graves, adrenalina, asociando antieméticos y/o analgesia, serían el tratamiento fundamental de este cuadro clínico (Daschner et al., 2012; del Pozo et al., 1999). Posteriormente un estudio alergológico confirma la etiología alérgica del episodio y se establecen las recomendaciones dietéticas a seguir por el paciente, fundamentalmente evitando el contacto con larvas vivas del parásito (Gamboa et al., 2012; Lorenzo et al., 2000; Sastre et al., 2000).

Sin clínica sistémica, se han descrito casos de dermatitis de contacto y conjuntivitis así como asma bronquial de causa ocupacional, producidas por el *Anisakis simplex* (Añíbarro & Seoane, 1998; Armentia et al., 1998; Aníbarro et al., 1997; Nieuwenhuizen et al., 2006).

1.3.2.3 Enfermedades exacerbadas por sensibilización al *Anisakis*

La sensibilización al *Anisakis simplex* en pacientes con patologías como la urticaria crónica o la dispepsia, se ha relacionado con una peor evolución de la enfermedad de

base, así como una mejoría sustancial al evitar el contacto con las larvas, detectándose valores positivos para la IgE específica frente al *Anisakis simplex* en hasta el 38% (Lorenzo et al., 2000) y el 13,8% (Toro et al., 2004; Toro et al., 2006) de los pacientes, respectivamente.

Este hecho se refleja en un estudio realizado por Toro et al. (2004) en el que en una población de pacientes con *Helicobacter pylori*, aquellos sensibilizados al *Anisakis simplex* mantenían síntomas de dispepsia a pesar de la erradicación de la bacteria. Estudios en urticaria crónica han demostrado diferentes perfiles de citoquinas dependiendo de la existencia de sensibilización al *Anisakis simplex* y la evitación del contacto con sus larvas (Daschner et al., 2013; Toro et al., 2006). El hecho de no generar cuadros graves de manera aguda tras la ingesta de pescado complica en estos casos la relación causal, pasando desapercibida la implicación del parásito en el empeoramiento de los síntomas crónicos. Por el momento, no se ha establecido si la cronicidad de estas patologías podría estar en relación con el contacto persistente con el *Anisakis simplex* pero se sospecha un infradiagnóstico de la relación causal entre la sensibilización al parásito *Anisakis simplex* y el desarrollo de molestias digestivas crónicas.

1.4 ANTÍGENOS DEL ANISAKIS SIMPLEX

Una fuente alérgica está constituida por diversas moléculas antigénicas. Algunas de ellas poseen la capacidad de inducir la producción de anticuerpos IgE específicos en individuos con predisposición a desarrollar alergia. A estas moléculas se las denomina alérgenos.

El proceso de inducción de IgE específica se conoce como sensibilización y sucede tras exposición a la fuente alérgica, ocasionando en sucesivos contactos el desarrollo de

clínica alérgica. Cuando un alérgeno es responsable de la sensibilización a la fuente alérgica en más del 50% de los pacientes, se considera alérgeno mayoritario.

Hasta la fecha, 14 son los antígenos (moléculas) descritos del *Anisakis simplex* (<http://www.allergen.org/>) con la nomenclatura Ani s (Tabla 3). Algunos de ellos muy bien caracterizados con una función biológica definida y habiéndose determinado su prevalencia de sensibilización en pacientes alérgicos.

También se han identificado panalérgenos, antígenos responsables de la reactividad cruzada entre el parásito y otras fuentes alérgicas como ácaros o crustáceos. La reactividad cruzada se produce cuando proteínas de diferentes fuentes alérgicas muestran cierto grado de homología en las secuencias polipeptídicas a nivel de los epítomos (lugares donde se unen a los anticuerpos IgE en el caso de los alérgenos). Este hecho produce que una sensibilización primaria a una fuente alérgica genere síntomas tras el contacto con otra. Así, cuando coexisten varias sensibilizaciones a diferentes alérgenos, se hace necesario diferenciar la sensibilización real de la producida por reactividad cruzada debido a la presencia de epítomos similares (Kochanowski et al., 2019).

En cuanto a los antígenos del *Anisakis simplex*, se han clasificado en tres grupos en base a su localización/procedencia en: antígenos de excreción-secreción, antígenos somáticos y antígenos estructurales.

1.4.1 Antígenos de excreción-secreción

Este tipo de antígenos son liberados por las larvas vivas, a través de su glándula esofágica dorsal y las células excretoras del tracto digestivo. Son enzimas histiolíticas cuya función es favorecer la penetración de las larvas a través de la mucosa digestiva. Son los primeros antígenos en aparecer tras el contacto con las larvas vivas y frente a ellos se sintetiza IgE

específica capaz de activar a mastocitos y basófilos, produciendo su degranulación y consecuentes síntomas alérgicos.

A este tipo de antígenos pertenecen el Ani s 1, Ani s 4, Ani s 5, Ani s 6, Ani s 7, Ani s 8, Ani s 9 y Ani s 13 (Fæste et al., 2014; Moneo et al., 2017). De ellos, tres son considerados alérgenos mayoritarios: el Ani s 1, inhibidor de las serin proteasas tipo Kunitz (Caballero & Moneo, 2002); el Ani s 7, de función biológica desconocida (Anadón et al., 2009; Rodríguez et al., 2008); y el Ani s 13, correspondiente a la hemoglobina del parásito (González-Fernández et al., 2015). Tanto el Ani s 7 como el Ani s 13 se caracterizan por no haberse demostrado homología con antígenos de otras fuentes alérgicas.

1.4.2 Antígenos somáticos

Se corresponden con aquellos presentes en el cuerpo del parásito siendo los más abundantes. Su detección indica contacto previo con el *Anisakis simplex*, pero no se relacionan con sensibilización sintomática aguda ya que son funcionales tras la muerte y degradación del parásito. Presentan una alta homología con antígenos de otros invertebrados por lo que podrían estar detrás de muchos casos de falsos positivos por reactividad cruzada (Guarneri et al., 2007; Shafique et al., 2012). Entre los mejor caracterizados se encuentran el Ani s 2 (paramiosina) (Guarneri et al., 2007) y el Ani s 3 (tropomiosina) (Asturias et al., 2000). Otro antígeno somático es el Ani s 10, sin función biológica conocida por el momento (Caballero et al., 2011).

1.4.3 Antígenos de superficie

Son antígenos que se expresan en la cutícula del parásito y son liberados cuando se encuentra en la transición de estadio larvario de L3 a L4. Se elucubra que este tipo de

antígenos tienen un papel importante en el estímulo crónico que generan las larvas y que produce la formación de granulomas, entre otros (Iglesias et al., 1996).

1.4.4 Reactividad cruzada

Diferentes antígenos del *Anisakis simplex* presentan gran similitud con moléculas de otros alérgenos como ocurre entre su tropomiosina y la de los ácaros y crustáceos (Der p 10, Pen a 1 y Ani s 3) o con otros parásitos como el *Ascaris*, por homología entre antígenos somáticos. También se ha demostrado reactividad cruzada con antígenos de quironómidos y cucarachas. Esto implica que un despistaje de otras sensibilizaciones podría mejorar el diagnóstico de sensibilización primaria al *Anisakis simplex* (Brusca et al., 2020; Johansson et al., 2001; Viñas et al., 2020) habiendo autores que proponen incluir la determinación de la IgE frente al *Ascaris* en el algoritmo diagnóstico de alergia al *Anisakis simplex* (Carballeda-Sangiao et al., 2014).

Tabla 3. Antígenos caracterizados del *Anisakis simplex*.

ALÉRGENO	LOCALIZACIÓN	FUNCIÓN	TIPO	REFERENCIA
Ani s 1	ES	Inhibidor de serina proteasa	M	(Moneo et al., 2000)
Ani s 2	So	Paramiosina	P	(Pérez-Pérez et al., 2000)
Ani s 3	So	Tropomiosina	P	(Asturias et al., 2000)
Ani s 4	ES	Inhibidor de cisteína proteasa	m	(Moneo et al., 2005; Rodríguez-Mahillo et al., 2007)
Ani s 5	ES	Familia SXP/RAL-2	m	(Kobayashi et al., 2007)
Ani s 6	ES	Inhibidor de proteasa sérica	m	(Kobayashi et al., 2007)
Ani s 7	ES	¿?	M	(Rodríguez et al., 2008)
Ani s 8	ES	Familia SXP/RAL-2	m	(Kobayashi et al., 2007)
Ani s 9	ES	Familia SXP/RAL-2	m	(Rodríguez-Perez et al., 2008)
Ani s 10	So	¿?	m	(Caballero et al., 2011)
Ani s 11	¿?	¿?	m	(Kobayashi et al., 2011)
Ani s 12	¿?	¿?	M	(Kobayashi et al., 2011)
Ani s 13	So	Hemoglobina	M	(González-Fernández et al., 2015)
Ani s 14	¿?	¿?	M	(Kobayashi et al., 2015)

ES: excreción/secreción; So: somático; ¿?: actualmente desconocido/a; M: alérgeno mayoritario; P: panalérgeno; m: alérgeno minoritario.

1.5 MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

El diagnóstico de la anisakiasis en el momento agudo es fundamentalmente clínico, basado en la anamnesis y cronología entre la aparición de los síntomas alérgicos y/o gastrointestinales y el consumo de una especie de pescado altamente sugestivo de estar infestado por larvas vivas de *Anisakis simplex*. De hecho, en pacientes con dolor abdominal, el antecedente de ingesta en los minutos/horas previas de pescado crudo o poco cocinado y no congelado tiene una alta sensibilidad y valor predictivo positivo, por

lo que es muy útil a la hora de descartar la anisakiasis (Del Rey-Moreno et al., 2008). Otro dato característico, es la tolerancia del alimento por parte de otros comensales, lo que descarta cuadros como la escombroidosis u otras intoxicaciones alimentarias.

Por lo general la clínica alérgica se presenta entre varios minutos y varias horas tras la ingesta de pescado infestado. La clínica exclusivamente gastrointestinal puede aparecer hasta 24-48 horas después de haber consumido el alimento, lo que presenta una mayor dificultad diagnóstica. A esto se añade que los síntomas son, en la mayoría de las ocasiones, comunes a otras patologías digestivas frecuentes (Chung & Lee, 2014).

En cuanto a las técnicas disponibles, existen pruebas de imagen en las que se objetiva la presencia directa del parásito o datos indirectos de infección/inflamación.

El diagnóstico de alergia al *Anisakis simplex* es normalmente determinado por pruebas de reacción cutánea (prueba cutánea o intraepidérmicas) y ensayos de radioalergoabsorbencia, midiendo los niveles sanguíneos de IgE específica. La provocación oral doble ciego y controlada con placebo se considera el patrón oro (patrón de referencia) para confirmar clínicamente una alergia alimentaria. En el caso del *Anisakis simplex* hablamos de un agente infeccioso además de un alérgeno y con el factor añadido de que es condición necesaria que las larvas estén vivas para que se desencadenen las manifestaciones clínicas. Por ello, existen estudios con fines de investigación en los que se llevan a cabo provocaciones orales con larvas liofilizadas pero su empleo no está indicado como prueba diagnóstica de manera rutinaria (Sastre et al., 2000).

1.5.1 Diagnóstico de parasitación

La técnica que permite un diagnóstico etiológico de la parasitación es la endoscopia, mediante la cual se observan y pueden ser extraídas las larvas (Kim et al., 2013). Su hallazgo no es frecuente ya que por lo general son expulsadas en etapas muy iniciales del

cuadro clínico (vómitos, diarrea,...). Otras exploraciones como la ecografía abdominal o la tomografía axial computarizada pueden mostrar signos indirectos de engrosamiento de la pared intestinal, líquido libre en la cavidad peritoneal o incluso, adenopatías mesentéricas (Sotelo et al., 2018) secundarias a la parasitación y la reacción inflamatoria que se produce.

En cuadros crónicos, pueden llegar a encontrarse larvas o hallazgos sugestivos de parasitación con formaciones granulomatosas e infiltración eosinofílica en biopsias de muestras localizadas (Kang et al., 2014).

1.5.2 Diagnóstico inmunoalérgico convencional: prueba cutánea y determinación de IgE a extracto completo

Entre las técnicas habituales del estudio alergológico para el diagnóstico de una sensibilización IgE mediada al *Anisakis simplex* se incluyen la prueba cutánea con extracto completo y la detección de IgE específica frente al parásito.

La prueba cutánea (intraepidérmica o prick-test), se realiza aplicando una gota de extracto completo del parásito en la cara volar del antebrazo y puncionando con una lanceta específica para tal uso. Tiene una alta sensibilidad pero escasa especificidad: un resultado positivo indica contacto previo con el parásito pero no siempre confirma una sensibilización sintomática en la que la presencia de IgE específica frente al parásito produce síntomas alérgicos tras contacto con el mismo (Del Rey-Moreno et al., 2008). Por ello, se le atribuye un sobrediagnóstico de alergia al *Anisakis simplex* cuando se emplea de manera rutinaria y se interpreta un resultado positivo como sensibilización clínicamente relevante.

Para la detección de la IgE específica existen diferentes técnicas como el SDS-PAGE con extracto purificado de *Anisakis simplex* o el immunoblotting (Del Rey-Moreno et al.,

2008). La técnica más utilizada es el radioinmunoensayo o ImmunoCAP (Thermo Fisher Scientific Inc., Uppsala, Sweden), a la que se le han atribuido unos valores de sensibilidad y especificidad en torno al 98%-100% y 50-78%, respectivamente (Del Rey-Moreno et al., 2008; Anadón et al., 2010).

Hay que tener en consideración, que estas pruebas diagnósticas se realizan con extracto completo del parásito, es decir, con una mezcla de todos sus antígenos, lo que no permite diferenciar resultados positivos por sensibilización genuina al *Anisakis simplex* de aquellos falsos positivos por reactividad cruzada en pacientes con alergia a ácaros, crustáceos, cucaracha u otros parásitos con los que comparte alta homología antigénica (Baeza et al., 2001).

1.5.3 Diagnóstico inmunoalérgico por componentes moleculares

El diagnóstico por componentes moleculares en Alergología se basa en la detección de IgE específica frente a alérgenos concretos para revelar frente a qué parte o molécula de esa sustancia alergénica está sensibilizado el paciente. Se considera una técnica que aumenta la especificidad diagnóstica comparada con la detección de IgE específica frente al extracto completo ya que permite identificar el perfil de sensibilización de manera individualizada. Además puede discernir entre sensibilizaciones genuinas y clínicamente relevantes de aquellas que se originan por reactividad cruzada con otras fuentes alergénicas que presentan homología antigénica.

Este tipo de técnicas han permitido establecer prevalencias más reales y pronósticos de la evolución de las patologías en función de los perfiles de sensibilización presentados por los pacientes (Barber et al., 2009) además de proporcionar información relevante sobre los riesgos de sufrir una reacción grave y puede guiar a los alergólogos en el tratamiento específico (Baeza et al., 2004; C. Cuéllar et al., 2012; Gamboa et al., 2012).

En el caso del diagnóstico de alergia al *Anisakis simplex*, dentro de sus antígenos descritos, la detección mediante la técnica ELISA de anticuerpos IgE frente a los alérgenos recombinantes Ani s 1 y Ani s 7 (Trisakis-170 ELISA, Laboratorio de Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España) se han postulado como método válido para diferenciar entre los distintos cuadros clínicos que el parásito puede desencadenar en humanos. Son reconocidos por el 60-85% y el 94-100% de los pacientes con clínica alérgica aguda tras contacto con larvas vivas de *Anisakis simplex*, respectivamente (Anadón et al., 2010, 2009; Toro et al., 2006). Este hecho concuerda con la naturaleza de ambos alérgenos, los cuales son producidos y secretados por larvas vivas de *Anisakis simplex* en estadio L3 (Ubeira et al., 2011).

Diversos estudios han empleado el método Trisakis -170 para establecer prevalencias de sensibilización al parásito en diferentes poblaciones como donantes de sangre asintomáticos, pacientes con urticaria crónica o trabajadores con manipulación directa de pescado fresco (Cuéllar et al., 2012; Jerončić et al., 2020; Valiñas et al., 2001) como método más sensible y específico para el diagnóstico de contacto con el parásito. Sin embargo, su uso como biomarcador de gravedad de respuesta alérgica frente al parásito no ha sido evaluado.

Recientemente también se ha estudiado la relevancia diagnóstica de otros alérgenos como el Ani s 13 como posible biomarcador para diferenciar entre pacientes con episodios previos de anisakiasis gastroalérgica frente aquellos con urticaria crónica (González-Fernández et al., 2015) habiéndose demostrado que hasta el 90% de los pacientes alérgicos reconocen este alérgeno (González-Fernández et al., 2017). La detección de IgE frente a los alérgenos Ani s 1 y Ani s 3 también se ha empleado en el diagnóstico

diferencial de pacientes con y sin urticaria en regiones donde las infecciones por *Anisakis simplex* son frecuentes (Viñas et al., 2020).

1.5.4 Otras técnicas y determinaciones serológicas

Como sucede en otros cuadros desencadenados por parásitos, la IgE total en los pacientes que han sufrido infecciones por *Anisakis simplex* se encuentra elevada (Daschner et al., 2010).

Otras inmunoglobulinas como la IgG₄, relacionada en procesos alérgicos con disminución de la hipersensibilidad/aumento de la tolerancia, también se ha postulado como técnica relevante para diferenciar entre aquellos pacientes sensibilizados al *Anisakis simplex* que presentan cuadros de urticaria frente a los que desarrollan cuadros de anisakiasis gastroalérgica (Daschner et al., 2014; García-Alonso et al., 2015).

2. JUSTIFICACIÓN

2. JUSTIFICACIÓN

El *Anisakis simplex* es el parásito más relevante a nivel alergológico por inducir sensibilización y cuadros alérgicos graves. Su creciente presencia en especies de pescado de elevado consumo doméstico ha incrementado exponencialmente el contacto entre sus larvas vivas en estadio L3 y el ser humano. Así constituye actualmente un problema de salud pública, siendo considerado el 4º parásito de transmisión alimentaria más relevante en el ranking de la FAO/OMS (Food and Agriculture Organization of the United Nations & World Health Organization, 2014), poniendo de manifiesto el gran impacto que tiene a nivel alimentario y económico.

En la actualidad, la presencia de IgE específica frente al *Anisakis simplex* puede ser detectada por diversos métodos diagnósticos, *in vivo* e *in vitro*. Sin embargo, su significación clínica es incierta. Se asume que la detección de IgE específica frente al parásito, con prueba cutánea positiva o IgE sérica (ImmunoCAP) implica contacto con el mismo sin poder en muchas ocasiones asociarlo a síntomas infecciosos o alérgicos. Predecir qué sujetos sensibilizados (en los que se detecta IgE específica) desarrollarán síntomas alérgicos tras exposiciones posteriores con el *Anisakis simplex* continúa siendo una cuestión sin resolver, al igual que la identificación de qué alérgenos del parásito son responsables de una sensibilización clínicamente relevante.

La aplicación del diagnóstico por componentes moleculares en alergología ha dado un salto cualitativo en el manejo de pacientes polisensibilizados en alergia respiratoria y alimentaria (Anadón et al., 2009; Cuéllar et al., 2012; Muraro et al., 2017). Su uso en el caso de la sensibilización a parásitos, que inducen una respuesta Th2 por hipersensibilidad y por infección, parece ser una herramienta prometedora a la hora de diferenciar entre alergia y sensibilización asintomática. Actualmente el número de alérgenos del *Anisakis*

simplex comercializados es muy limitado, destacando en inmunoensayo el Ani s 1 y Ani s 3 (ImmunoCAP) y en ELISA, el Ani s 1 y Ani s 7 (Trisakis-170).

Debido a que el Ani s 3 se corresponde con la tropomiosina del *Anisakis simplex* y presenta reactividad cruzada con las de otros invertebrados, sería más concluyente el análisis de la IgE frente al Ani s 1 y Ani s 7 (Anadón et al., 2009, 2010; Martínez-Aranguren et al., 2014).

Las características de la Comunidad de Cantabria con un elevado consumo de pescado fresco y presencia de *Anisakis simplex*, hacen relevante establecer la seroprevalencia de IgE frente al parásito en la región y determinar la precisión diagnóstica que nos aportan las técnicas actualmente disponibles.

Por otra parte, el *Anisakis simplex* también se ha relacionado con patología digestiva crónica (Toro et al., 2004), en la cual se sospecha un infradiagnóstico de la relación causal entre la sensibilización al *Anisakis simplex* y el desarrollo de dispepsia. En caso de ser relevante, podría tener una gran importancia clínica y terapéutica desconocidas actualmente en nuestra región, fundamentalmente en pacientes con causas tratables resueltas como la infección por *Helicobacter pylori* o lesiones de la mucosa gástrica.

3. HIPÓTESIS

3. HIPÓTESIS

La determinación de IgE específica frente a los alérgenos mayoritarios del *Anisakis simplex* Ani s 1 y Ani s 7, podría presentar mayor precisión diagnóstica que la determinación de IgE a extracto completo para diferenciar entre pacientes con sensibilización clínicamente relevante (alérgicos) y población sensibilizada asintomática.

4. OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVOS PRINCIPALES

- Determinar la prevalencia de sensibilización al *Anisakis simplex* (IgE específica frente a extracto completo) en la población general de Cantabria.
- Determinar la precisión diagnóstica que aporta la detección de IgE frente a los alérgenos Ani s 1 y Ani s 7 en comparación con la determinación de IgE específica frente a extracto completo de *Anisakis simplex*.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar los diferentes patrones de sensibilización entre alérgicos y población con sensibilización asintomática.
- Establecer un punto de corte en la IgE específica frente a extracto completo de *Anisakis simplex* e IgE frente a los alérgenos Ani s 1 y Ani s 7, con unos niveles óptimos de especificidad y sensibilidad, de acuerdo a la presencia de clínica alérgica al *Anisakis simplex*.
- Analizar y comparar las características epidemiológicas (datos demográficos, patrones de consumo de pescado) entre los pacientes alérgicos al *Anisakis simplex* y el grupo de población con sensibilización asintomática.

4.3 OBJETIVOS EXPLORATORIOS

- Analizar los patrones de sensibilización al *Anisakis simplex* (diámetro medio de pápula en la prueba cutánea y niveles de IgE específica sérica frente a extracto completo de *Anisakis simplex*, Ani s 1 y Ani s 7) en pacientes con dispepsia en relación a los hallazgos endoscópicos e infección por *Helicobacter pylori*.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5. MATERIAL Y MÉTODOS

Este proyecto ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Cantabria (Anexo 10.1).

5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Nuestro trabajo se trata de un estudio observacional, no intervencionista con recogida prospectiva de las variables principales. Se desarrolló en el Servicio de Alergología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV), en colaboración con el Servicio de Digestivo e Inmunología del mismo hospital, el Banco de Sangre y Tejidos de Cantabria (BSTC) y con el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela (USC).

5.2 SUJETOS DEL ESTUDIO

Todos los sujetos incluidos en el estudio eran mayores de 18 años. Previo a su inclusión, recibían información del estudio por escrito mediante la Hoja de información al paciente (Anexos 11.2 y 11.4), pudiendo solicitar las aclaraciones que consideraran pertinentes. Si aceptaban voluntariamente participar, firmaban el consentimiento informado del estudio (Anexo 11.3 y 11.5). Ambos documentos tenían una versión específica dependiendo del lugar donde se realizara el reclutamiento de los sujetos (BSTC o las consultas del Servicio de Alergología).

A todos los participantes se les proporcionó un cuestionario sobre hábitos de consumo de pescado y características demográficas (Anexo 11.6).

Fueron incluidos tres grupos de sujetos: 1) donantes del BSTC, 2) pacientes alérgicos y 3) pacientes con dispepsia crónica.

- 1) El grupo de **donantes de sangre** fue constituido por 403 sujetos, incluidos entre abril y junio de 2016, de manera consecutiva cuando acudían al BSTC para una donación voluntaria.

Todos los donantes se autclasificaron, mediante un cuestionario, en base a presentar: síntomas alérgicos tras la ingesta de pescado (alergia), urticaria crónica, dispepsia crónica o ninguna de las anteriores. Los donantes que no padecían ninguna de las patologías, fueron considerados “donantes asintomáticos” (Figura 5). Posteriormente se dividió el grupo de donantes en función de la sensibilización *in vitro* frente al extracto completo de *Anisakis simplex* (IgE específica frente a *Anisakis simplex* >0,35 kUA/L, ImmunoCAP). Así, se obtuvo un subgrupo de donantes asintomáticos sensibilizados, como grupo comparativo (control) con los pacientes alérgicos.

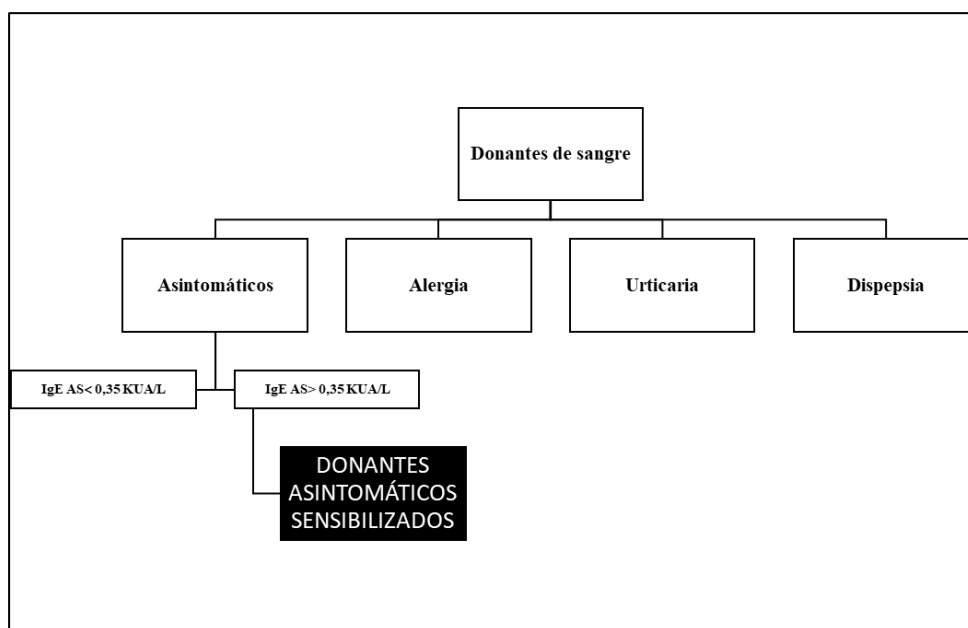


Figura 5. Algoritmo de clasificación clínica del grupo de donantes.

Por lo tanto, se clasificaron como donantes sensibilizados asintomáticos aquellos que presentaban ambos criterios:

- Ausencia de clínica alérgica o digestiva tras la ingesta de pescado susceptible de contener larvas de *Anisakis simplex*; urticaria crónica; o dispepsia.
- IgE específica (InmunoCAP) frente al extracto completo de *Anisakis simplex* >0,35 kUA/L.

El número muestral del grupo fue definido en baso al objetivo de calcular la prevalencia de sensibilización al parásito en la población de Cantabria y a obtener un número muestral significativo de donantes sensibilizados asintomáticos como grupo control (con una precisión de ± 5 % y un nivel de confianza del 95 %). En estudios previos nacionales se estimaba una prevalencia de sensibilización al *Anisakis simplex* del 13 % (Aizpuru, 2001; Puente et al., 2008; Valiñas et al., 2001), por lo que en nuestra población era necesario el número muestral total de 403 donantes.

- 2) El **grupo de los pacientes alérgicos** se constituyó con 49 sujetos, incluidos de manera prospectiva desde abril de 2016 a julio de 2018, que acudieron a las consultas de Alergología de adultos del HUMV, por reacción alérgica en probable relación con la ingesta de pescado susceptible de contener *Anisakis simplex*.

Se consideraron pacientes alérgicos aquellos que cumplieran los tres criterios siguientes:

- Pacientes con clínica alérgica (urticaria aguda, angioedema, broncoespasmo, anafilaxia) y/o clínica gastrointestinal, en las primeras 24 horas tras la ingesta de pescado susceptible de contener larvas de *Anisakis simplex*.
- Prueba cutánea e IgE frente al extracto completo de *Anisakis simplex*, positivos.
- Tolerancia de pescado con pruebas diagnósticas (prick y/o IgE específica) frente a pescado, negativas.

3) Los **pacientes con dispepsia crónica** fueron definidos por “la presencia en hemiabdomen superior o retroesternal de dolor, molestia, ardor, náuseas, vómito o cualquier otro síntoma que se considere originado en el tracto gastrointestinal superior” (Gisbert et al., 2012), de manera crónica, no relacionado con la ingesta de un alimento concreto. El diagnóstico de dispepsia crónica fue realizado por el Servicio de Digestivo del HUMV y derivados posteriormente al Servicio de Alergología para valorar sensibilización al *Anisakis simplex*.

No fue un criterio de exclusión los antecedentes o la infección por *Helicobacter pylori* ni hallazgos endoscópicos patológicos.

5.2.1 Ámbito del estudio

Los pacientes incluidos en el estudio correspondían al área sanitaria de Santander-Laredo (área de referencia del HUMV).

5.2.2 Circuito de los sujetos del estudio

Los pacientes incluidos en el grupo de alérgicos acudían a las consultas de Alergología derivados para estudio de reacción alérgica tras ingesta de pescado susceptible de contener *Anisakis simplex*. Para la realización de las pruebas diagnósticas se siguió el protocolo habitual del HUMV. En una primera consulta se llevaron a cabo las pruebas cutáneas y extracción analítica para determinación de IgE total y específicas con posterior consulta de revisión y seguimiento.

Los donantes fueron reclutados en el BSTC el día que iban a realizar una donación de sangre. A todos ellos se les preguntó mediante un cuestionario si querían ser contactados en caso de resultado positivo (sensibilización *in vitro* al *Anisakis simplex*) (Anexo 11.6). Aquellos que dieron su consentimiento, fueron posteriormente informados y citados para

acudir a las Consultas de Alergología, ser interrogados sobre la persistencia de tolerancia al pescado y completar el estudio, de manera voluntaria, con la realización de un prick test con extracto completo de *Anisakis simplex*.

En el caso de los pacientes con dispepsia crónica, éstos eran derivados desde el Servicio de Digestivo del HUMV. Inicialmente se descartaba en la anamnesis alergia alimentaria o relación de la dispepsia con la ingesta de un alimento concreto. Posteriormente se realizaban las pruebas cutáneas y extracción de sangre en una primera consulta con seguimiento para informar de los resultados.

5.2.3 Procedimiento de confidencialidad

A objeto de garantizar la confidencialidad de todos los datos de carácter personal e información procedente de los pacientes incluidos en el estudio, de base a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, se estableció un sistema de codificación numérico correlativo según el orden de incorporación al estudio y al grupo que pertenecían los sujetos. Dicha codificación fue empleada tanto para la seudonimización de los cuestionarios como de las muestras de suero.

5.3 CUESTIONARIO DE DATOS DEMOGRÁFICOS Y HÁBITOS DE CONSUMO DE PESCADO

A todos los sujetos participantes en el estudio se les entregó un cuestionario del que se extrajeron los datos demográficos y sobre hábitos de consumo de pescado analizados posteriormente (Anexo 11.6). Dentro de las variables demográficas se incluyó la profesión del sujeto incluido en el estudio, considerándose “Profesión relacionada con la

manipulación de pescado” las siguientes: cocinero, pescador, conservero, marino y pescadero.

Las respuestas a los hábitos de consumo de pescado no eran excluyentes entre sí, pudiendo contestarse varias opciones en cada una de las preguntas. Este hecho determinó la presentación de los resultados de estas variable en porcentajes referidos al total de casos válidos.

5.4 ESCALA DE GRAVEDAD DE LAS REACCIONES ALÉRGICAS

Para determinar la gravedad de las reacciones alérgica se empleó la escala modificada de Brown (Brown, 2004): leves o grado 1, aquellas que se limitaron a un sistema de órganos típicamente piel; las reacciones moderadas o grado 2, cuando estaban involucrados dos o más órganos/sistemas sin alteración de constantes vitales; y graves o grado 3, cuando estaban afectados uno o más órganos/sistemas asociando alteración de constantes vitales como hipotensión, desaturación de oxígeno, convulsiones o pérdida del conocimiento.

5.5 PRUEBAS DIAGNÓSTICAS CONVENCIONALES PARA EL DIAGNÓSTICO DE ALERGIA AL *ANISAKIS SIMPLEX*

5.5.1 Pruebas cutáneas con extracto completo

Las pruebas cutáneas con extracto completo de *Anisakis simplex* (Concentración del extracto=165 mcg/mL. Laboratorios LETI, S.L.U., Madrid, España) fueron realizadas siguiendo la técnica estándar validada por la Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica (Dreborg et al., 1993), aplicando una gota del extracto en la cara volar del antebrazo de los sujetos, utilizando para puncionar, lancetas de un solo uso,

diseñadas para tal fin, estériles, desechables, con punta de 1 mm. Así se consigue que el extracto alérgico penetre en las capas superficiales de la piel (aproximadamente 3,3 x 10⁻⁶ ml) y entre en contacto con los mastocitos cutáneos. En caso de que el paciente esté sensibilizado, liberarán mediadores (histamina) generando una pápula eritematosa y pruriginosa en el lugar de la punción.

La interpretación del resultado se realiza a los 15 minutos midiéndose el diámetro mayor y el diámetro ortogonal, es decir, el diámetro a los 90° de su punto medio, considerando como positiva la prueba si tiene un diámetro de pápula ≥ 3 mm (Vohlonen et al., 1989).

Como control positivo se utilizó Dihidrocloruro de histamina (Laboratorios Roxall, España; 10 mg/ml) y como control negativo, suero salino fisiológico (0.9% NaCl).

5.5.2 Detección de IgE específica frente a extracto completo de *Anisakis simplex* (ImmunoCAP)

Se determinó la IgE sérica específica frente a extracto completo de *Anisakis simplex* (IgE-*Anisakis*) mediante la técnica de ImmunoCAP (Thermo Fisher Scientific Inc., Uppsala, Sweden) (Ewan & Coote, 1990; Thorpe et al., 2014), siguiendo las instrucciones de la casa comercial.

La técnica de ImmunoCAP es una técnica cuantitativa de fluoroinmunoanálisis enzimático en sándwich constituido por una fase sólida, (polímero hidrofílico activado de celulosa, CAP), donde unido de manera covalente se encuentra el antígeno. El suero del paciente se incuba durante 30 minutos para favorecer la unión de las IgE específicas, al alérgeno presente en dicha fase sólida. Posteriormente se realiza un lavado para eliminar la IgE no específica y se realiza una nueva incubación con anti-IgE conjugada con beta-galactosidasa que quedará unida a las IgE específicas del paciente que previamente se han fijado a la fase sólida. Posteriormente se añade metilumbeliferil-beta-D-galactósido que

la beta-galactosidasa transforma en un producto fluorescente, 4-metil-umbeliferona. La fluorescencia generada será proporcional a la IgE que se haya unido al alérgeno de la fase sólida, determinándose los niveles de IgE por comparación con valores de una curva estándar previamente establecida (Thorpe et al., 2014).

Los niveles de anticuerpos IgE específicos son detectados en un rango de 0,35 a 100 kUA/L, considerándose positivos (sensibilización) valores de IgE específica $> 0,35$ kUA/L. En función de rangos intermedios, se han establecido por consenso diferentes clases: clase 0 ($\leq 0,35$ kUA/L), clase 1 (0,35 - 0,7 kUA/L), clase 2 (0,7 - 3,5 kUA/L), clase 3 (3,5 - 17,5 kUA/L), clase 4 (17,5 - 50 kUA/L), clase 5 (50 - 100 kUA/L) y clase 6 (> 100 kUA/L) (Ewan & Coote, 1990).

5.6 DETERMINACIÓN DE IgE ESPECÍFICA FRENTE A Anis 1 Y Anis 7 (TRISAKIS-170, ELISA)

Para determinar la sensibilización a los alérgenos mayoritarios del *Anisakis simplex* Anis 1 y Anis 7, se empleó la técnica ELISA (Trisakis-170 ELISA) desarrollada en el Laboratorio de Parasitología por el Profesor Dr. D. Florencio M. Ubeira de la Universidad de Santiago de Compostela (Galicia, España), siguiendo el procedimiento previamente publicado (Anadón et al., 2010; Lin et al., 2014; Mladineo et al., 2014; Rodríguez et al., 2008).

El Trisakis-170 consiste en un ELISA indirecto con los antígenos recombinantes Anis 1 y Anis 7 para detectar la IgE específica frente a dichos alérgenos mayoritarios (IgE-Anis 1 e IgE-Anis 7, respectivamente). Se emplearon 100 μ l de suero que por cada sujeto, incubándose en tres condiciones: con r-Anis 1, t-Anis 7 y sin antígeno. Se midió la densidad óptica a 492 nm de las dos primeras condiciones, restando la obtenida en la que no se había añadido antígeno. Los puntos de corte utilizados fueron los validados en

estudios anteriores, siendo para el Anis 1 una densidad óptica de 0,09 y de 0,05 para el Anis 7 (Anadón et al., 2010; Rodríguez et al., 2008).

5.7 DETERMINACIÓN DE IgE TOTAL

Para el análisis de la IgE total se empleó la técnica ImmunoCAP previamente descrita. Esta determinación se realizó en todos los sujetos incluidos en el estudio.

En este caso, la fase sólida presenta un anticuerpo anti-IgE unido, que se une a su vez a la IgE presente en el suero del paciente. Posteriormente, se añade el segundo anticuerpo marcado con β -galactosidasa, un anti-IgE dirigido frente a otros epítomos de la IgE y el sustrato fluorogénico, midiéndose luego la fluorescencia emitida que se corresponderá proporcionalmente con la cantidad de IgE del sujeto fijada entre el anticuerpo de captura y el de detección (Thorpe et al., 2014). Fueron considerados valores positivos aquellos que presentaban una IgE total > 100 UI/ml.

5.8 PROTOCOLO PARA LA REALIZACIÓN DE PRUEBAS FRENTE AL *ANISAKIS SIMPLEX*

Las muestras de suero fueron extraídas el mismo día que el sujeto era incluido en el estudio. Para la obtención del suero se utilizaron los tubos separadores de Suero Vacutainer[®] SST[™] II Advance (Becton Dickinson) que contiene un gel que permite la separación de suero y el coágulo sanguíneo tras centrifugación. Posteriormente 0,5mL de suero eran enviados al laboratorio de Inmunología del HUMV para la determinación de la IgE total y de la IgE específica frente a extracto completo de *Anisakis simplex*. Los sueros de todos los sujetos del estudio fueron analizados para ambas variables.

El resto del suero obtenido (otros 0,5mL por sujeto) era congelado a -20C° para ser enviado en hielo seco al Laboratorio de Parasitología de la Universidad de Santiago de Compostela (España), donde se realizaron las determinaciones de la IgE específica frente a los alérgenos recombinantes Ani s 1 y Ani s 7 empleando el método Trisakis-170 (ELISA) en los pacientes alérgicos, los pacientes del grupo de dispepsia y a aquellos donantes sensibilizados asintomáticos (excepto a uno por no haberse obtenido suficiente muestra de suero).

Las pruebas cutáneas, fueron realizadas en todos los pacientes alérgicos y con dispepsia, así como en aquellos donantes sensibilizados asintomáticos que accedieron a su realización durante la consulta de seguimiento en el Servicio de Alergología.

5.9 PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE SENSIBILIZACIÓN A PESCADO, *DERMATOPHAGOIDES PTERONYSSINUS* Y GAMBA

Utilizando los métodos previamente descritos, se realizaron pruebas cutáneas con extractos comerciales de pescado (Bacalao, 1200 mcg proteína/mL; Lenguado 3300 mcg proteína/mL; Trucha 250 mcg proteína/mL; Atún 800 mcg proteína/mL. Laboratorios LETI, S.L.U., Madrid, España) en el grupo de pacientes alérgicos; y las IgE específica frente a pescado (Bacalao), *Dermatophagoides pteronyssinus* y gamba se determinaron mediante la técnica de ImmunoCAP (Thermo Fisher Scientific Inc., Uppsala, Suiza) en pacientes alérgicos y donantes asintomáticos, sensibilizados al *Anisakis simplex*.

5.10 PROCEDIMIENTOS ENDOSCÓPICOS, CULTIVO DE BIOPSIAS Y DETECCIÓN DE IGG FRENTE AL *HELICOBACTER PYLORI*

En aquellos pacientes con dispepsia que bajo criterio del Servicio de Digestivo del HUMV lo requerían, se realizó una endoscopia alta siguiendo el protocolo habitual de dicho Servicio, previa valoración alergológica. Durante la endoscopia, se tomaron muestras de biopsia para examen histológico y cultivo con el fin de evaluar lesiones de la mucosa gástrica, así como infección por *Helicobacter pylori*. En algunos pacientes también se determinó la IgG sérica frente al bacilo mediante inmunoensayo quimioluminiscente indirecto (CLIA) (VIRCLIA[®]) midiendo las unidades relativas de luminiscencia (RLU) considerando un resultado positivo un índice de anticuerpos (RLU de la muestra /RLU del calibrador) mayor de 1,1. Los resultados de dichas técnicas fueron extraídos de la historia clínica de los pacientes remitidos a nuestras consultas, así como el diagnóstico, establecido previamente por el especialista.

5.11 PROCESAMIENTO DE DATOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de los datos incluidos en el trabajo se creó una base de datos con el paquete estadístico SPSS versión 20, que se empleó para el análisis de los mismos.

Para analizar posibles asociaciones entre las características demográficas (variables independientes) y la sensibilización clínicamente relevante a *Anisakis simplex* (variable dependiente), se utilizaron análisis de regresión logística univariados y multivariados. Las variables cualitativas fueron descritas empleando los porcentajes con los IC del 95% para las variables principales. Un valor de $p \leq 0.05$ se consideró significativo. Para las variables cuantitativas se comprobó si los datos obtenidos se ajustaban a la distribución normal por medio del test de Kolmogorov-Smirnov. Según el resultado, los datos fueron

expresados como media aritmética y desviación estándar ($\text{media} \pm \text{DE}$) o mediana y rango intercuartílico ($\text{mediana} \pm \text{IQ}_{25-75}$). Los test de hipótesis empleados para variables cualitativas con el fin de comparar diferencias entre grupos fueron el test de Chi cuadrado o el test exacto de Fisher. Para comprobar la relación entre variables numéricas se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman debido a que dichas variables no se ajustaban a la distribución normal; para comprobar las diferencias entre datos emparejados se empleó el test de Wilcoxon.

Se evaluó la precisión diagnóstica (capacidad de clasificar correctamente a los individuos según un patrón de referencia) de las pruebas *in vitro* IgE específica frente al extracto completo y frente a los alérgenos mayoritarios, Ani s 1 y Ani s 7. Para ello se realizó un análisis de regresión logística calculando el área bajo la curva (AUC) de la característica operativa del receptor (COR). En estas curvas se refleja el espectro completo de los pares sensibilidad/especificidad para todos los valores y se determina el punto óptimo de equilibrio entre ambos parámetros permitiendo así valorar la precisión diagnóstica de las pruebas que se comparan. En la comparación del AUC de dos curvas COR se empleó el procedimiento de DeLong (DeLong et al., 1988) y para la estimación y representación gráfica de las curvas COR además de la correlación entre los niveles séricos, se utilizó el software estadístico MedCalc versión 19.1 (MedCalc Software bvba, Ostende, Bélgica; <http://www.medcalc.org>; 2019).

Dos comparativas fueron realizadas: una para valorar la capacidad de clasificar correctamente a los individuos según la presencia de sensibilización asintomática o clínicamente relevante (alérgica); y otra para diferenciar entre aquellos pacientes alérgicos que habían sufrido reacciones leves-moderadas frente a los que habían presentado cuadros de anafilaxia.

En la primera de ellas, la presencia de clínica compatible con reacción alérgica tras ingesta de pescado fresco susceptible de contener larvas vivas de *Anisakis simplex* fue considerado como patrón de referencia; para la segunda, el haber desarrollado una reacción anafiláctica tras dicho consumo.

**6. RESULTADOS:
DONANTES DE
SANGRE Y
PACIENTES
ALÉRGICOS**

6. RESULTADOS: donantes de sangre y pacientes alérgicos

6.1 RESULTADO DEL GRUPO DE DONANTES DE SANGRE

6.1.1 Características demográficas y clínicas

La edad de los donantes se situó entre los 18 y los 69 años con una media de $43,72 \pm 12,37$, siendo el 29,2% mujeres.

El 87,7% de los donantes negaron el consumo de alcohol y un 84,8% el hábito tabáquico.

Un 74,3% (n=281) vivía en lugares de costa y tan solo un 4,71% (n=19) referían dedicarse a profesiones vinculadas con la manipulación de pescado fresco (Tabla 4).

Tabla 4. Datos demográficos de los donantes del banco de sangre

Donantes de sangre (n=403)	
Mujeres (n)	107
Edad, años (DE)	43,72 (12,37)
Residencia en costa (%)	74,3
Profesión relacionada con la manipulación de pescado (%)	4,71

Porcentajes referidos al total de casos válidos.

De los 403 donantes incluidos en el estudio, un 1% (n=4) refirieron presentar clínica alérgica y/o digestiva tras la ingesta de pescado susceptible de contener larvas de *Anisakis simplex*, un 0,5% (n=2) urticaria crónica y un 2,7% (n=11) dispepsia crónica. Cinco donantes (1,2%), no se clasificaron en el cuestionario. La mayoría, (n=381; 94,5%), negaron presentar síntomas tras la ingesta de pescado o alimento sugestivo de contener larvas de *Anisakis simplex* ni tener urticaria crónica o dispepsia (Tabla 5).

Tabla 5. Características clínicas de los donantes de sangre

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	Total de donantes (n=403)
Cuando como pescado tengo brotes de ronchas o molestias gástricas	4 (1%)
Tengo ronchas/picor sin clara relación con comer pescado	2 (0,5%)
Tengo molestias gastrointestinales sin clara relación con comer pescado	11 (2,7%)
No tengo molestias gástricas ni urticaria (ronchas que pican) ni problemas con comer pescado	381 (94,5%)
No clasificados	5 (1,2%)

Datos extraídos de las respuestas obtenidas en el cuestionario de características de demográficas y hábitos de consumo (Anexo 11.6).

6.1.2 Resultados de pruebas diagnósticas convencionales

La IgE a extracto completo de *Anisakis simplex* fue positiva en 51 de los 403 donantes incluidos (12,7%). Cuando se tuvo en cuenta exclusivamente al grupo de donantes considerados asintomáticos, la prevalencia de sensibilizados fue del 12,3% (n=47/381) (Tabla 6 y Figura 6).

Tabla 6. Número de donantes positivos para la IgE-*Anisakis* en función de sus síntomas

	Alérgicos (n=4)	Urticaria crónica (n=2)	Dispepsia crónica (n=11)	Asintomáticos (n=381)
IgE-<i>Anisakis</i> positiva	1 (25%)	0 (0%)	3 (27,27%)	47 (12,33%)

Número de donantes y porcentajes referidos al total de casos válidos.

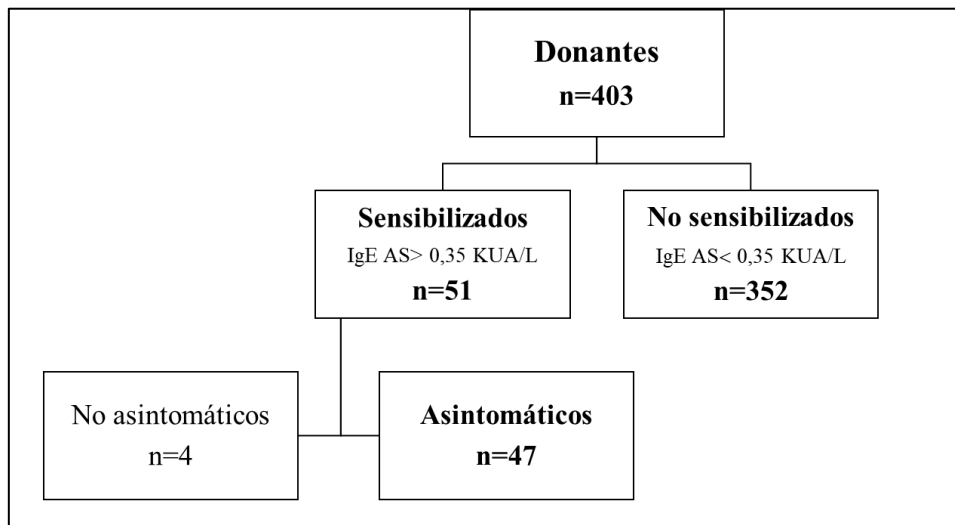


Figura 6. Algoritmo de los resultados en el grupo de donantes

Atendiendo al global de donantes (n=403), los valores de la mediana para la IgE total y la IgE específica frente a extracto completo fue de $11,25 \pm 27,06$ UI/L y $0,03 \pm 0,05$ kUA/L, respectivamente. Los resultados en el subgrupo de donantes asintomáticos fueron de $35,15 \pm 101,58$ UI/L y $1,79 \pm 4,71$ kUA/L (Tabla 7).

De los 51 donantes sensibilizados, 31 accedieron a realizar un seguimiento en consulta dos años tras su inclusión en el estudio. La prueba cutánea con extracto completo de *Anisakis simplex* se realizó en 21 de ellos siendo positiva en 13, con un valor de $5 \pm 1,5$ mm. Un donante sensibilizado al parásito, inicialmente asintomático, presentó prueba cutánea positiva en la visita de seguimiento refiriendo haber sufrido un episodio de anafilaxia entre el momento de su inclusión en el estudio y la consulta. El episodio fue constatado en el Servicio de Urgencias del HUMV en el que se registraba un episodio de reacción alérgica grave tras ingesta de lubina salvaje.

Tabla 7. Resultados de IgE total, IgE-*Anisakis* y prueba cutánea con extracto completo en el grupo de donantes del banco de sangre

Donantes de sangre (n=403)	
IgE total (IU/mL)	11,25 ± 27,06
IgE-<i>Anisakis</i> (kUA/L)	0,03 ± 0,05
Prueba cutánea (mm)	5,00 [#] ± 1,5

Datos expresados en mediana±IQ₂₅₋₇₅

[#] La prueba cutánea fue realizada en 21 donantes sensibilizados.

6.1.3 Resultados analíticos de IgE específica frente a Ani s 1 y Ani s 7 en donantes sensibilizados asintomáticos

Se analizó la IgE frente a los alérgenos recombinantes Ani s 1 y Ani s 7 en 46 de los 47 donantes asintomáticos sensibilizados ya que uno de los sueros fue insuficiente para su análisis. Los resultados para cada uno de los alérgenos fueron de 0,13±1,20 y 0,57±1,22, respectivamente. Además, se obtuvieron valores positivos en un 52,2% de los donantes para el Ani s 1 y del 89,1% para e Ani s 7, siendo ambos valores positivos en el 52,2% (Tabla 8).

Tabla 8. Donantes sensibilizados asintomáticos con valores positivos de IgE-Ani s 1 e IgE-Ani s 7 (Trisakis-170)

	Donantes sensibilizados asintomáticos (n=46)
IgE-Ani s 1 positivo, n (%)	24 (52,2)
IgE-Ani s 7 positivo, n (%)	41 (89,1)
IgE-Ani s 1, IgE-Ani s 7 positivos, n (%)	24 (52,2)

6.1.4 Resultados de IgE específica frente a *Dermatophagoides pteronyssinus* y gamba en donantes sensibilizados asintomáticos

La IgE específica frente a *Dermatophagoides pteronyssinus* y gamba fueron determinadas en 43 de los 47 donantes sensibilizados asintomáticos a *Anisakis simplex*.

Todos los sujetos del grupo presentaron un resultado positivo de IgE específica frente a *Dermatophagoides pteronyssinus* con una mediana de 38,60±100,7 kUA/L que contrastaba con el 13,95% (6/43) de sueros positivos para gamba (0,02±0,07 kUA/L) (Tabla 9). De manera llamativa, tan solo 5 donantes referían clínica de rinoconjuntivitis en probable relación con sus sensibilización al ácaro.

Tabla 9. Resultados de IgE específica a *Dermatophagoides pteronyssinus* y gamba en donantes sensibilizados asintomáticos

	Donantes sensibilizados asintomáticos positivos (n=43)	Mediana± IQ ₂₅₋₇₅
IgE-DPT (kUA/L)	43 (100%)	38,60±100,7
IgE-Gamba (kUA/L)	6 (13,95%)	0,02±0,07

DPT: *Dermatophagoides pteronyssinus*

6.1.5 Hábitos de consumo de pescado

Los datos extraídos del cuestionario sobre hábitos de consumo revelaron que el 51% de los donantes presentaba un consumo de pescado de 2-3 veces por semana. Respecto a la procedencia, el 74,2% consumía pescado fresco y el 90,3% lo preparaba en su domicilio. Las especies más consumidas fueron la merluza y los bocartes (74,7% y 53,3%, respectivamente). La práctica totalidad de los sujetos de este grupo (98,6%) declararon tolerar pescado congelado. Tan solo el 18,9% consumía pescado crudo y el 9% realizaba conservas en su domicilio (Tabla 10).

Tabla 10. Características de hábitos de consumo de pescado (donantes del banco de sangre)

Total de donantes (n=403)	n (%)
Frecuencia de consumo	
Diario	8 (2%)
2-3 veces/semana	205 (51%)
1-2 veces/semana	149 (37,1%)
<1 veces/semana	38 (9,5%)
Nunca	2 (0,5%)
Método de conservación	
Fresco	285 (74,2%)
Ultracongelado	98 (25,7%)
Congelado en el domicilio	125 (32,6%)
Lugar de preparación	
Restaurante	51 (15,4%)
En el domicilio	299 (90,3%)
Envasado	32 (9,6%)
Técnica de cocinado	
Crudo	22 (6%)
Cocido	82 (22,3%)
Frito	274 (74,7%)
Asado	131 (35,7%)
Marinado	25 (6,8%)
Especies de pescado	
Merluza	268 (72,8%)
Anchoa/boquerón	196 (53,3%)
Atún	148 (40,2%)
Bonito	170 (46,2%)
Sardina	148 (40,2%)
Bacalao	140 (38%)
Origen	
Salvaje	125 (45,8%)
Enlatado	133 (48,9%)
Piscifactoría	97 (35,7%)
Toleran pescado congelado	361 (98,6%)
Consumo de pescado crudo	75 (18,9%)
Realización de conservas caseras	36 (9%)

Número de pacientes y porcentajes referidos al total de casos válidos.

6.2 RESULTADOS DEL GRUPO DE PACIENTES ALÉRGICOS

6.2.1 Características demográficas y clínicas

Los 49 pacientes alérgicos al *Anisakis simplex* incluidos en el estudio presentaron edades comprendidas entre los 26 y los 77 años (media $54,96 \pm 11,63$ años). En cuanto a la distribución por género predominó el femenino (30 frente a 19).

Referente a los hábitos tóxicos, el 83,7 % (n=41) de los pacientes declararon no consumir alcohol y el 75,5 % (n=37) negaron hábito tabáquico.

La mayoría de los pacientes incluidos en el estudio residían en localidades de costa (83,7%; n=41). Solo el 12% (n=6), desempeñaba un empleo en relación con la manipulación directa de productos susceptibles de contener *Anisakis simplex* (Tabla 11).

Tabla 11. Datos demográficos de los pacientes alérgicos

Pacientes alérgicos (n=49)	
Mujeres (n)	30
Edad, años (DE)	54,96 (11,6)
Residencia en costa (%)	83,7
Profesión relacionada con la manipulación de pescado (%)	12

Porcentajes referidos al total de casos válidos.

En un 99,59% de los pacientes alérgicos al *Anisakis simplex*, los síntomas se iniciaron durante las 6 primeras horas tras la ingesta y un 70% en menos de 3 horas (media $146 \pm 145,55$ minutos) (Figura 7).

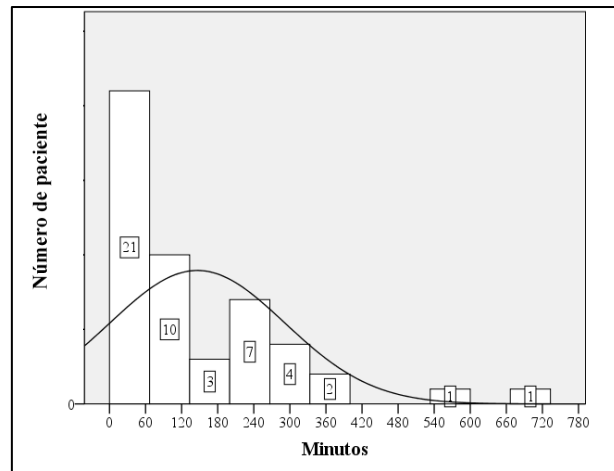


Figura 7. Número de pacientes alérgicos distribuidos según el tiempo transcurrido entre la ingesta de pescado y el inicio de los síntomas alérgicos

En cuanto a la gravedad de las reacciones sufridas por los pacientes alérgicos, siguiendo la escala modificada de Brown (2004), un 49% (n=24) sufrió reacciones graves, un 42,9% (n=21) moderadas y tan solo un 8,2% (n=4) leves. (Figura 8).

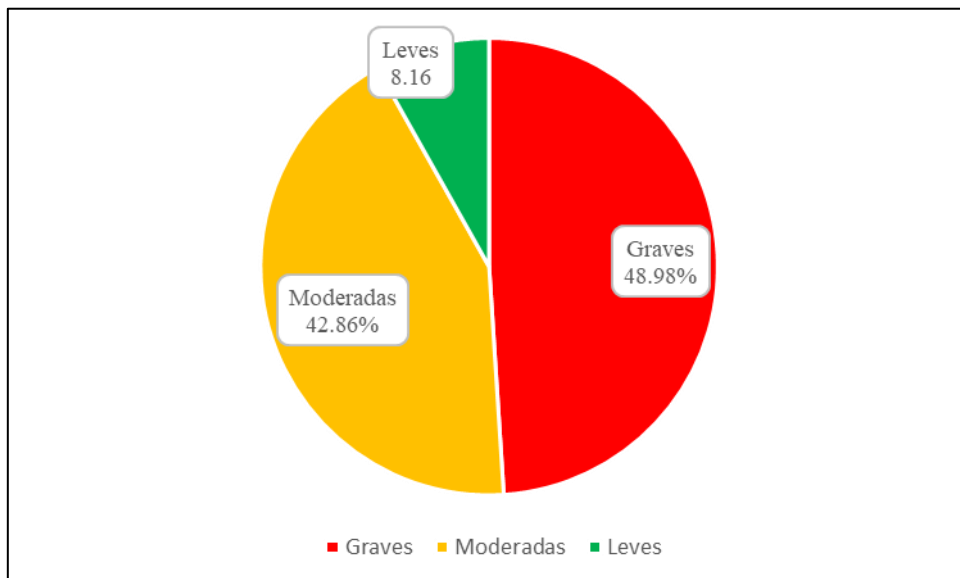


Figura 8. Gravedad de la reacción en pacientes alérgicos

Las especies de pescado más frecuentemente implicadas en las reacciones alérgicas fueron en un 46,94% (n=23) la merluza (*Merluccius merluccius*) y en un 38,8% (n=19) el bocarte (*Engraulis encrasicolus*) (Tabla 12).

En ninguna de las reacciones registradas el pescado había sido congelado previo a su consumo y las técnicas de preparado fueron: al microondas y escasamente cocido (merluza), en vinagre (bocarte), a la plancha (bonito), frito (lirios y chicharro) y en ceviche (lubina y perca).

Tabla 12. Frecuencia de las especies implicadas en las reacciones alérgicas

	Número de casos	%
Merluza	23	46,9
Bocarte	19	38,8
Chicharro	3	6,1
Bonito	1	2
Lirios	1	2
Lubina	1	2
Perca	1	2
TOTAL	49	100

En cuanto a las manifestaciones clínicas, los síntomas más frecuentes fueron los cutáneos incluyendo urticaria y/o angioedema (89,8%; n=44), seguidos por los gastrointestinales agudos (65,3%; n=32) y los respiratorios, (28,6%; n=14). Atendiendo a los criterios previamente descritos (Chung & Lee, 2014), un 51,0% (n=25) presentó una anisakiasis gastroalérgica. En el 26,5% (n=13) de las reacciones se registraron alteraciones hemodinámicas, cumpliendo criterios de anafilaxia un 49% de los episodios totales (n=24) (Tabla 13).

Dentro de las reacciones anafilácticas, un 75% (n=18) presentaron síntomas compatibles con anisakiasis gastroalérgica.

Tabla 13. Características clínicas de las reacciones iniciales en pacientes alérgicos

	Clínica Cutánea	Clínica Gastrointestinal aguda	Clínica respiratoria	Alteraciones hemodinámicas	Anafilaxia	Anisakiasis gastroalérgica
n	44	32	14	13	24	30
%	89,79	65,30	28,57	26,53	48,98	61,22

6.2.2 Resultados de pruebas diagnósticas convencionales

El valor de la mediana de la IgE total fue de 366 ± 587 IU/mL, de la IgE específica a extracto completo de $37,8 \pm 79,74$ kUA/L y de $5,5 \pm 4,5$ mm para la prueba cutánea (Tabla 14).

Tabla 14. Resultados de IgE total, IgE-*Anisakis* y prueba cutánea con extracto completo en pacientes alérgicos

Pacientes alérgicos (n=49)	
IgE total (IU/mL)	366 ± 587
IgE-<i>Anisakis</i> (kUA/L)	$37,80 \pm 79,74$
Prueba cutánea (mm)	$5,50 \pm 4,5$

Datos expresados en mediana \pm IQ₂₅₋₇₅

6.2.3 Resultados de IgE específica frente a Ani s 1 y Ani s 7 en pacientes alérgicos

En la determinación de IgE específica frente a los alérgenos recombinantes Ani s 1 y Ani s 7 en el grupo de pacientes alérgicos los resultados fueron de $1,47 \pm 1,47$ y $1,34 \pm 0,9$, respectivamente. Además, presentaron un valor positivos el 77,5% de los pacientes para

el Ani s 1 y del 95,9% para e Ani s 7, siendo ambos valores positivos en el 77,5% (Tabla 15).

Tabla 15. Pacientes alérgicos con valores positivos de IgE-Ani s 1 e IgE-Ani s 7 (Trisakis-170)

	Pacientes alérgicos (n=49)
IgE-Ani s 1 positivo, n (%)	38 (77,5)
IgE-Ani s 7 positivo, n (%)	47 (95,9)
IgE-Ani s 1, IgE-Ani s 7 positivos, n (%)	38 (77,5)

6.2.4 Hábitos de consumo de pescado

En cuanto a los hábitos de consumo de pescado, la mayoría de los pacientes alérgicos (57,1%; n=28) consumían pescado de 2-3 veces por semana, preferentemente fresco (75%), salvaje (72,5%) y preparado en el domicilio (93,5%), siendo la fritura el método de cocina más utilizado (70,8%). Las especies más consumidas en este grupo del estudio fueron el bocarte (*Engraulis encrasicolus*) (79,6%) y la merluza (*Merluccius merluccius*) (67,3%). Hasta el 91,4% de los pacientes alérgicos declararon tolerar pescado congelado y un 57,4% ser consumidores de pescado crudo. Un 22,4% realizaba conservas de pescado en su domicilio (Tabla 16).

Tabla 16. Características de hábitos de consumo de pescado (pacientes alérgicos)

Pacientes alérgicos (n=49)	n (%)
Frecuencia de consumo	
Diario	5 (10,2%)
2-3 veces/semana	28 (57,1%)
1-2 veces/semana	10 (20,4%)
<1 veces/semana	6 (12,2%)
Nunca	0 (0%)
Método de conservación	
Fresco	36 (75%)
Ultracongelado	5 (10,4%)
Congelado en el domicilio	17 (35,4%)
Lugar de preparación	
Restaurante	13 (28,3%)
En el domicilio	43 (93,5%)
Envasado	5 (10,9%)
Técnica de cocinado	
Crudo	8 (16,7%)
Cocido	16 (33,3%)
Frito	34 (70,8%)
Asado	10 (20,8%)
Marinado	9 (18,8%)
Especies de pescado	
Merluza	32 (65,3%)
Anchoa/boquerón	39 (79,6%)
Atún	18 (36,7%)
Bonito	29 (59,2%)
Sardina	22 (44,9%)
Bacalao	24 (49,0%)
Origen	
Salvaje	29 (72,5%)
Enlatado	18 (45,0%)
Piscifactoría	7 (17,5%)
Toleran pescado congelado	42 (91,3%)
Consumo de pescado crudo	27 (57,4%)
Realización de conservas caseras	11 (22,4%)

Número de pacientes y porcentajes referidos al total de casos válidos.

6.3 COMPARACIÓN ENTRE DATOS INDEPENDIENTES

6.3.1 Diferencias demográficas y de hábitos de consumo entre donantes no sensibilizados y sensibilizados asintomáticos

Se compararon las variables demográficas y los hábitos de consumo entre aquellos donantes no sensibilizados al *Anisakis simplex* (n=352/403) y los donantes sensibilizados asintomáticos (n=47). De entre los datos analizados, el único que mostró diferencias estadísticamente significativas fue la edad (p=0,006), ligeramente mayor en los donantes sensibilizados (43,06 años frente a 48,27 años) (Tabla 17).

Tabla 17. Comparación de características demográficas entre donantes no sensibilizados y sensibilizados asintomáticos

	Donantes no sensibilizados (n=352)	Donantes sensibilizados asintomáticos (n=47)	p
Mujeres (n)	95	12	0,832
Edad, años (DE)	43,06 (12,24)	48,27 (12,64)	0,006**
Residencia en costa (%)	73,1	81,4	0,148
Profesión relacionada con la manipulación de pescado (%)	5,68	3,92	0,605

* p < 0,05; ** p < 0,01. Porcentajes referidos al total de casos válidos.

En cuanto a los hábitos de consumo, se objetivó que en los donantes asintomáticos sensibilizados era más prevalente de manera estadísticamente significativa, la ingesta diaria de pescado (p=0,033) y la preparación en crudo (p=0,004). Por el contrario, los donantes no sensibilizados presentaron un consumo mayor de merluza (p=0,039), de pescado ultracongelado (p=0,031) y en restaurantes (p=0,018) (Tabla 18).

Tabla 18. Comparación de hábitos de consumo de pescado entre donantes no sensibilizados y sensibilizados

	Donantes no sensibilizados (n=352)	Donantes sensibilizados asintomáticos (n=47)	p
Frecuencia de consumo			
Diario	5 (1,4%)	3 (6,4%)	0,033*
2-3 veces/semana	178 (50,7%)	26 (55,3%)	0,751
1-2 veces/semana	131 (37,3%)	17 (36,2%)	0,790
<1 veces/semana	35 (10%)	1 (2,1%)	0,354
Nunca	2 (0,6%)	0 (0%)	NA
Método de conservación			
Fresco	244 (72,6%)	38 (84,4%)	0,058
Ultracongelado	92 (27,5%)	6 (13,6%)	0,031*
Congelado en el domicilio	113 (33,5%)	12 (27,3%)	0,273
Lugar de preparación			
Restaurante	50 (17,1%)	1 (2,7%)	0,018*
En el domicilio	261 (89,4%)	36 (97,3%)	0,110
Envasado	30 (10,2%)	2 (5,4%)	0,310
Técnica de cocinado			
Crudo	20 (6,3%)	1 (2,2%)	0,567
Cocido	70 (21,9%)	12 (26,7%)	0,636
Frito	234 (73,4%)	37 (82,2%)	0,138
Asado	114 (35,7%)	17 (37,8%)	0,966
Marinado	22 (6,9%)	3 (6,7%)	0,868
Especies de pescado			
Merluza	241 (74,6%)	25 (61%)	0,039*
Anchoa/bocarte	168 (52%)	27 (65,9%)	0,198
Atún	131 (40,6%)	16 (39%)	0,722
Bonito	144 (44,6%)	24 (58,5%)	0,096
Sardina	129 (39,9%)	19 (46,3%)	0,770
Bacalao	117 (36,2%)	22 (53,7%)	0,054
Origen			
Salvaje	109 (44,7%)	14 (53,8%)	0,283
Enlatado	121 (49,8%)	11 (42,3%)	0,392
Piscifactoría	86 (35,4%)	11 (42,3%)	0,686
Toleran pescado congelado	312 (98,4%)	45 (100%)	NA
Consumo de pescado crudo	58 (16,7%)	15 (32,6%)	0,004**
Realización de conservas caseras	30 (8,6%)	5 (10,9%)	0,436

Número de pacientes y porcentajes referidos al total de casos válidos. * p < 0,05; ** p < 0,01. NA, no aplicable.

6.3.2 Diferencias demográficas y de hábitos de consumo entre pacientes alérgicos y sensibilizados asintomáticos

Para establecer posibles factores relevantes en el desarrollo de una sensibilización al *Anisakis simplex* clínicamente relevante, se compararon datos demográficos entre pacientes alérgicos y aquellos donantes asintomáticos sensibilizados (Tabla 19).

Destaca una diferencia estadísticamente significativa entre grupos en cuanto al género con una mayor prevalencia de mujeres en los pacientes alérgicos ($p=0,001$). La media de edad también presentó diferencias estadísticamente significativas (54,96 años frente a 48,27 años; $p=0,010$). El hecho de vivir en un lugar de costa o de dedicarse a profesiones con manipulación directa de pescado, no generó diferencias significativas entre ambos grupos (Tabla 19).

Tabla 19. Comparación de características demográficas entre pacientes alérgicos y donantes sensibilizados asintomáticos

	Pacientes alérgicos (n=49)	Donantes sensibilizados asintomáticos (n=47)	p
Mujeres, n	30	12	0,001**
Edad, años (DE)	54,96 (11,63)	48,27 (12,64)	0,010**
Residencia en costa (%)	83,7	81,4	0,734
Profesión relacionada con la manipulación de pescado (%)	12,9	3,92	0,311

Porcentajes referidos al total de casos válidos. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

En cuanto a los hábitos alimentarios, el consumo en crudo y en restaurantes fueron las características más frecuentes en el grupo de pacientes alérgicos ($p=0,002$; $p=0,021$ y $p=0,012$; respectivamente), mientras que la tolerancia de pescado congelado y el consumo de pescado de piscifactoría lo fueron en el grupo de donantes sensibilizados asintomáticos ($p= 0,047$ y $p=0,021$, respectivamente) (Tabla 20).

Tabla 20. Comparación de hábitos de consumo de pescado entre pacientes alérgicos y donantes sensibilizados asintomáticos

	Alérgicos (n=49)	Sensibilizados asintomáticos (n=47)	p
Frecuencia de consumo			
Diario	5 (10,2%)	3 (6,4%)	0,518
2-3 veces/semana	28 (57,1%)	26 (55,3%)	0,951
1-2 veces/semana	10 (20,4%)	17 (36,2%)	0,116
<1 veces/semana	6 (12,2%)	1 (2,1%)	0,060
Nunca	0 (0%)	0 (0%)	0,518
Método de conservación			
Fresco	36 (75%)	38 (84,4%)	0,282
Ultracongelado	5 (10,4%)	6 (13,6%)	0,605
Congelado en el domicilio	17 (35,4%)	12 (27,3%)	0,310
Lugar de preparación			
Restaurante	13 (28,3%)	1 (2,7%)	0,002**
En el domicilio	43 (93,5%)	36 (97,3%)	0,435
Envasado	5 (10,9%)	2 (5,4%)	0,393
Técnica de cocinado			
Crudo	8 (16,7%)	1 (2,1%)	0,021*
Cocido	16 (33,3%)	12 (26,7%)	0,381
Frito	34 (70,8%)	37 (82,2%)	0,217
Asado	10 (20,8%)	17 (37,8%)	0,061
Marinado	9 (18,8%)	3 (6,7%)	0,090
Especies de pescado			
Merluza	32 (65,3%)	25 (61%)	0,563
Anchoa/bocarte	39 (79,6%)	27 (65,9%)	0,123
Atún	18 (36,7%)	16 (39%)	0,941
Bonito	29 (59,2%)	24 (58,5%)	0,637
Sardina	22 (44,9%)	19 (46,3%)	0,992
Bacalao	24 (49,0%)	22 (53,7%)	0,741
Origen			
Salvaje	29 (72,5%)	14 (53,8%)	0,093
Enlatado	18 (45,0%)	11 (42,3%)	0,692
Piscifactoría	7 (17,5%)	11 (42,3%)	0,021*
Toleran pescado congelado	42 (91,3%)	45 (100%)	0,047*
Consumo de pescado crudo	27 (57,4%)	15 (32,6%)	0,012*
Realización de conservas caseras	11(22,4%)	5 (10,9%)	0,144

Número de pacientes y porcentajes referidos al total de casos válidos. * p < 0,05; ** p < 0,01. NA, no aplicable.

6.4 COMPARACIÓN ENTRE DATOS ANALÍTICOS

6.4.1 Pruebas diagnósticas de pacientes alérgicos y donantes sensibilizados asintomáticos

Al comparar las medianas de las pruebas diagnósticas *in vitro* entre el grupo de alérgicos y donantes sensibilizados asintomáticos, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre todas ellas. No sucedió lo mismo al comparar los resultados de la prueba cutánea, en la que los resultados fueron muy similares entre grupos (Tabla 21).

En cuanto a la frecuencia de resultados positivos, se objetivaron diferencias estadísticamente significativas para el Ani s 1 y para una doble positividad ($p < 0,001$ y $p < 0,005$; respectivamente). Sin embargo, el porcentaje de sujetos positivos para Ani s 7 fue muy similar en ambos grupos ($p = 0,206$) (Tabla 21).

Tabla 21. Comparación de resultados de pruebas diagnósticas *in vitro* entre pacientes alérgicos y donantes sensibilizados asintomáticos

	Alérgicos (n=49)	Donantes sensibilizados asintomáticos (n=46)	P
IgE total (IU/mL)	366±587	35,15±101,58	<0,001**
IgE- <i>Anisakis</i> (kUA/L)	37,80±79,74	1,79±4,71	<0,001**
IgE-Ani s 1 (OD)	1,47±1,47	0,13±1,29	<0,005**
IgE-Ani s 7 (OD)	1,34±0,90	0,57±1,22	<0,005**
Prueba cutánea (mm)	5,50±4,50	5,00 [#] ±3,25	0,074
IgE-Ani s 1 positivo, n (%)	38 (77,5)	24 (52,2)	0,009**
IgE-Ani s 7 positivo, n (%)	47 (95,9)	41 (89,1)	0,206
IgE-Ani s 1, IgE-Ani s 7 positivos, n (%)	38 (77,5)	24 (52,2)	0,009**

Datos de resultados analíticos expresados en mediana±IQ₂₅₋₇₅

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

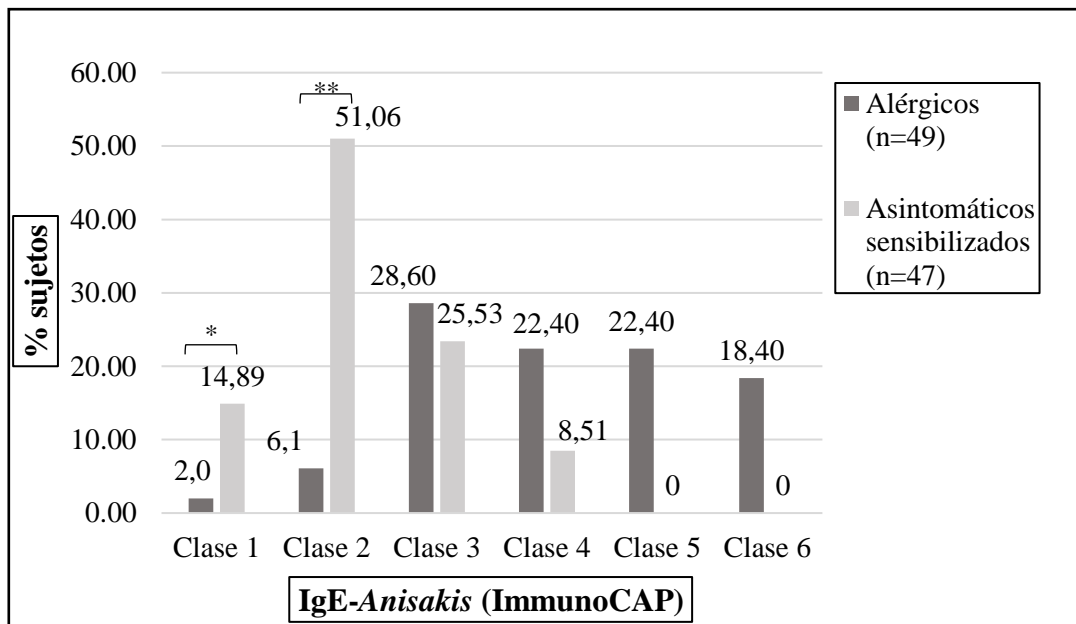
Así, según la frecuencia de positividades en el grupo de pacientes alérgicos (casos) y los donantes sensibilizados asintomáticos (controles), se obtuvieron una sensibilidad para el

Ani s 1 del 77,55% y para el Ani s 7 del 95,92%, con una especificidad del 47,82% y del 10,87%, respectivamente (Anexo 11.6.2 y 11.6.3).

6.4.2 Distribución por clases de la IgE específica frente a extracto completo: pacientes alérgicos y donantes sensibilizados asintomáticos

Los resultados de IgE específica frente a extracto completo de *Anisakis simplex* analizado por clases de IgE específica (Ewan & Coote, 1990) mostró que la mayoría de los pacientes alérgicos (n=45/49; 91,8%) presentaban niveles mayores de 3,5 kUA/L (Clases 3-6), hasta el 79,6% por encima de 8 kUA/L y el 63,2% presentaban unos niveles mayores de 17,5 kUA/L (Clase 4-6).

En el grupo de los donantes sensibilizados asintomáticos, el máximo valor obtenido de IgE específica a extracto completo fue de 40,70 kUA/L (Clase 4). Un 67,4% de ellos tenía valores menores de 3,5 kUA/L, el 83,4% niveles por debajo de 8 kUA/L y el 91,3% inferiores a 17,5 kUA/L (Clase 1-3). En concordancia con esta distribución de resultados, se observaron diferencias estadísticamente significativas con los pacientes alérgicos en los valores de las clases de IgE más bajas (de 0,35 a 0,7 kUA/L, $p=0,023$; y de 0,7 a 3,5 kUA/L, $p=0,000$) (Figura 9).



* p < 0,05; ** p < 0,01

Figura 9. Porcentaje de pacientes alérgicos y de donantes sensibilizados asintomáticos distribuidos por clases de IgE-*Anisakis* (ImmunoCAP)

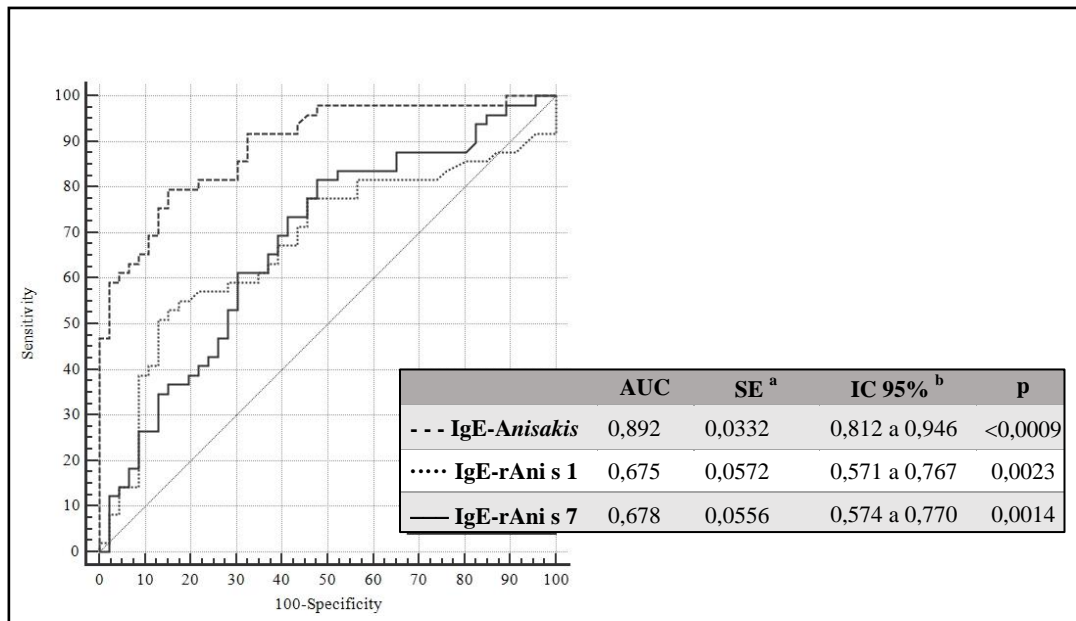
6.4.3 Curvas Característica Operativa del Receptor e Índice de Youden: IgE específica frente a extracto completo, Ani s 1 y IgE-Ani s 7

Para determinar qué prueba diagnóstica *in vitro* (IgE específica frente al extracto completo y frente a los alérgenos mayoritarios Ani s 1 y Ani s 7) presentaba una mayor correlación con el desarrollo de síntomas en una población sensibilizada, se calculó una curva COR (Figura 10).

Como patrón de referencia se estableció el diagnóstico de alergia al *Anisakis simplex* como la aparición de síntomas durante las primeras 24 horas posteriores a la ingesta de pescado susceptible de contener larvas vivas del parásito, habiéndose descartado alergia al pescado.

Atendiendo a dicho criterio, el AUC obtenida para la IgE frente a extracto completo fue de 0,892, mientras que para la IgE frente a Ani s 1 y Ani s 7 fue de 0,675 y 0,678, respectivamente. Al compararse dichas AUC, se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa entre la de la IgE a extracto completo y la presentada por los moleculares

($p < 0,0001$), mientras que no la hubo al comparar las AUC de los moleculares entre si ($p = 0,9438$) (Tabla 22).



^a DeLong et al., 1988 ^b Binomial exact.

Figura 10. Curva COR para IgE-*Anisakis* (InmunoCAP) IgE-Ani s 1 e IgE-Ani s 7 (Trisakis-170) en el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante

Patrón de referencia: antecedentes clínicos de reacción alérgica tras ingesta de pescado susceptible de contener *Anisakis simplex* (n= 49; 48,42%) frente a donantes asintomáticos sensibilizados al parásito (n= 46; 51,58%).

Puntos de corte: IgE-*Anisakis*, 0,35 kUA/L; IgE-Ani s 1, 0,09; IgE-Ani s 7, 0,05.

Tabla 22. Comparación de datos de Curva COR para IgE-*Anisakis* (InmunoCAP), IgE-Ani s 1 e IgE-Ani s 7 (Trisakis-170) en el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante

COMPARACIÓN DE DATOS CURVA COR			
	IgE- <i>Anisakis</i> vs IgE-Ani s 1	IgE- <i>Anisakis</i> vs IgE-Ani s 7	IgE- Ani s 1 vs IgE-Ani s 7
Diferencia entre áreas	0,217	0,214	0,00355
Error estándar^a	0,0440	0,0403	0,0503
Intervalo de confianza 95%	0,131 a 0,304	0,135 a 0,293	-0,0951 a 0,102
Z-test	4,946	5,304	0,0705
Nivel de significación	P < 0,0001	P < 0,0001	P = 0,9438

^a DeLong et al., 1988.

Se calculó además el Índice de Youden para estimar el punto de corte óptimo con el mejor equilibrio entre sensibilidad y especificidad. Para la IgE a extracto completo, dicho punto fue de $\geq 7,9$ kUA/L mostrando una sensibilidad del 79,59% y una especificidad del 84,78% (Tabla 23) con una razón de probabilidad positiva de 5,2 y negativa de 0,24 (Anexo 11.6.1).

El punto óptimo para la IgE frente al Ani s 1 fue de $>1,464$ OD con un sensibilidad del 51,02% y una especificidad del 86,96%; y para el Ani s 7 de $>0,589$ OD con una sensibilidad del 81,63% y una especificidad del 52,17% (Tabla 23). La razón de probabilidad positiva fue de 3,91 para el Ani s 1 y de 1,71 para el Ani s 7; y la razón de probabilidad negativa del 0,56 y del 0,35 respectivamente (Anexos 11.6.2 y 11.6.3).

Tabla 23. Índice de Youden para los valores de IgE-*Anisakis* (InmunoCAP), IgE-Ani s 1 e IgE-Ani s 7 (Trisakis-170) en el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante

ÍNDICE DE YOUTDEN			
	IgE- <i>Anisakis</i>	IgE-Ani s 1	IgE-Ani s 7
Índice de Youden	0,6437	0,3798	0,3381
Intervalo de confianza 95%^c	0,4689 a 0,7471	0,1996 a 0,5035	0,1603 a 0,4725
Criterio de asociación	$>7,9$	$>1,464$	$>0,589$
Intervalo de confianza 95%^c	$>1,8$ a $>26,6$	$>1,34$ a $>1,576$	$>0,053$ a $>1,165$
Sensibilidad	79,59	51,02	81,63
Especificidad	84,78	86,96	52,17

^c BC_a bootstrap confidence interval (1000 iterations; random number seed: 978).

6.4.4 Correlaciones analíticas: tiempo entre reacción y determinación analítica, atopia y sensibilización a *Dermatophagoides pteronyssinus* y gamba

Para establecer el nivel de relación y congruencia entre los resultados de las pruebas diagnósticas convencionales (prueba cutánea e IgE específica frente a extracto completo de *Anisakis simplex*) y de las IgE específicas frente a los alérgenos recombinantes Ani s 1 y Ani s 7, se procedió a correlacionar los valores obtenidos en el grupo de pacientes alérgicos y en el de donantes sensibilizados asintomáticos.

En el grupo de pacientes alérgicos todas las pruebas diagnósticas mostraron una correlación positiva estadísticamente significativa con el resto excepto la prueba cutánea. Además, se determinó el impacto en los resultados del tiempo transcurrido entre la reacción adversa y la extracción de la muestra serológica analizada, objetivándose una correlación negativa con valores de R, en todos los casos menores de 0,5. Lo mismo ocurrió con las correlaciones en relación con la prueba cutánea. El resto de las variables serológicas comparadas presentaron valores de correlación superiores o muy próximos a 0,5. (Tabla 24).

Tabla 24. Coeficiente de correlación de Spearman (Rho) entre resultados de las pruebas diagnósticas y tiempo entre la reacción y la extracción analítica, en pacientes alérgicos

PACIENTES ALÉRGICOS					
	IgE total	IgE- <i>Anisakis</i>	IgE-Ani s 1	IgE-Ani s 7	Prueba cutánea
IgE-<i>Anisakis</i>	0,804**	—	—	—	—
IgE-Ani s 1	0,499**	0,462**	—	—	—
IgE-Ani s 7	0,535**	0,603**	0,556**	—	—
Prueba cutánea	0,263	0,269**	0,297*	0,348*	—
Tiempo entre reacción- analítica	-0,337*	-0,393**	-0,234	-0,334*	-0,143

* p < 0,05; ** p < 0,01

En el grupo de donantes sensibilizados asintomáticos, se incluyó en las correlaciones la IgE específica a *Dermatophagoides pteronyssinus* y gamba, siendo en todas positiva (Tabla 25). Específicamente, los valores R más altos ($R \geq 0,5$) se obtuvieron comparando IgE total versus IgE frente a extracto completo ($R = 0,52$), IgE total versus IgE específica frente a *Dermatophagoides pteronyssinus* ($R = 0,88$), IgE total versus IgE específica frente a gamba ($R = 0,62$), IgE a extracto completo e IgE frente al alérgeno recombinante Ani s 7 ($R = 0,66$), y entre IgE específica frente a *Dermatophagoides pteronyssinus* versus a gamba ($R = 0,63$). Sin embargo, también se obtuvieron valores significativos de R para otras combinaciones, incluyendo IgE frente al alérgeno recombinante Ani s 7 versus IgE específica a para gamba y *Dermatophagoides pteronyssinus* (Tabla 25). Las comparaciones con los antecedentes de atopía (rinoconjuntivitis alérgica) presentaron valores de R más bajos excepto para la IgE a extracto completo.

Tabla 25. Coeficiente de correlación de Spearman (Rho) entre pruebas diagnósticas, atopía y sensibilización a *Dermatophagoides Pteronyssinus* y gamba, en los donantes sensibilizados asintomáticos

DONANTES SENSIBILIZADOS ASINTOMÁTICOS						
	IgE total	IgE- <i>Anisakis</i>	IgE-Ani s 1	IgE-Ani s 7	IgE-DPT	IgE-Gamba
IgE- <i>Anisakis</i>	0,522^{**}	—	—	—	—	—
IgE-Ani s 1	0,086	0,414^{**}	—	—	—	—
IgE-Ani s 7	0,310[*]	0,662^{**}	0,527^{**}	—	—	—
IgE-DPT	0,876^{**}	0,474^{**}	0,125	0,327[*]	—	—
IgE-Gamba	0,618^{**}	0,465^{**}	0,206	0,430^{**}	0,631^{**}	—
Atopia	0,251	0,404[*]	0,171	0,318	0,062	0,049

Se consideró atopía el diagnóstico de rinoconjuntivitis alérgica en probable relación con la sensibilización a ácaros. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; DPT: *Dermatophagoides Pteronyssinus*.

6.5 COMPARACIÓN ENTRE DATOS ANALÍTICOS Y VARIABLES INDEPENDIENTES

6.5.1 Pruebas diagnósticas y síntomas de la reacción alérgica

Los resultados de las pruebas diagnósticas fueron analizados en función de los síntomas presentados por los pacientes alérgicos, atendiendo a los órganos o sistemas afectados (Tabla 26).

En cuanto a la IgE total y la IgE específica a extracto completo, todos los pacientes independientemente de la reacción sufrida presentaron valores positivos ya que era criterio de inclusión.

Tabla 26. Resultados positivos de IgE-Ani s 1, IgE-Ani s 7 en función de los síntomas de la reacción alérgica

SÍNTOMAS	n	IgE-Ani s 1	IgE-Ani s 7	IgE-Ani s 1, IgE-Ani s 7
Cutáneos	44	84,1%	95,5%	81,1%
Respiratorios	14	85,7%	100%	85,7%
Gastrointestinal	32	84,4%	93,8%	81,3%
Anafilaxia	24	87%	100%	87%
Gastroalérgica	30	86,7%	93,3%	83,3%

La presencia de clínica respiratoria en los cuadros alérgicos mostró valores más altos de IgE específica frente a extracto completo ($p=0,013$), Ani s 1 ($p=0,040$) y Ani s 7 ($p=0,021$), respecto a aquellas sin afectación de vía aérea (Tabla 27).

Tabla 27. Comparación resultados en función de los síntomas presentados por los pacientes alérgicos durante la reacción adversa

SÍNTOMAS		IgE total IU/L	IgE – <i>Anisakis</i> (kUA/L)	Prueba cutánea (mm)	IgE -Ani s 1 (OD)	IgE -Ani s 7 (OD)
Cutáneos	Sí	368,50	38,65	5,50	1,48	1,35
	No	108,00	14,30	10,00	1,23	0,658
	p	0,291	0,716	0,087	0,741	0,306
Respiratorios	Sí	451,00	77,20	5,00	1,64	1,62
	No	319,00	23,40	5,50	1,23	1,23
	p	0,060	0,013*	0,916	0,040*	0,021*
Digestivos	Sí	328,50	42,15	5,50	1,44	1,31
	No	371,00	30,10	5,50	1,48	1,35
	p	0,721	0,266	0,423	0,900	0,705
Gastroalérgica	Sí	328,50	42,15	5,50	1,44	1,24
	No	371,00	30,10	5,50	1,48	1,36
	p	0,594	0,234	0,546	0,79	0,378

* p < 0,05; ** p < 0,01.

6.5.2 Pruebas diagnósticas y gravedad de la reacción alérgica

Se compararon los resultados analíticos y de la prueba cutánea con extracto completo de *Anisakis simplex*, en los pacientes alérgicos según el grado de reacción adversa sufrida previa al diagnóstico. Para su gradación se siguieron los criterios de la escala de Brown (Brown, 2004).

Se objetivaron diferencias estadísticamente significativas al comparar valores de IgE específica a extracto completo entre las reacciones moderadas y graves (p=0,003). En cuanto a la IgE específica frente al alérgeno recombinante Ani s 1, se obtuvieron valores estadísticamente significativos al comparar las medianas entre las reacciones leves y moderadas (p=0,042) y entre las moderadas y graves (p=0,013) (Figura 11).

Para el resto de las variables analizadas, la IgE total, IgE específica frente al alérgeno recombinante Ani s 7 y la prueba cutánea, no se obtuvieron diferencias significativas (Tabla 28).

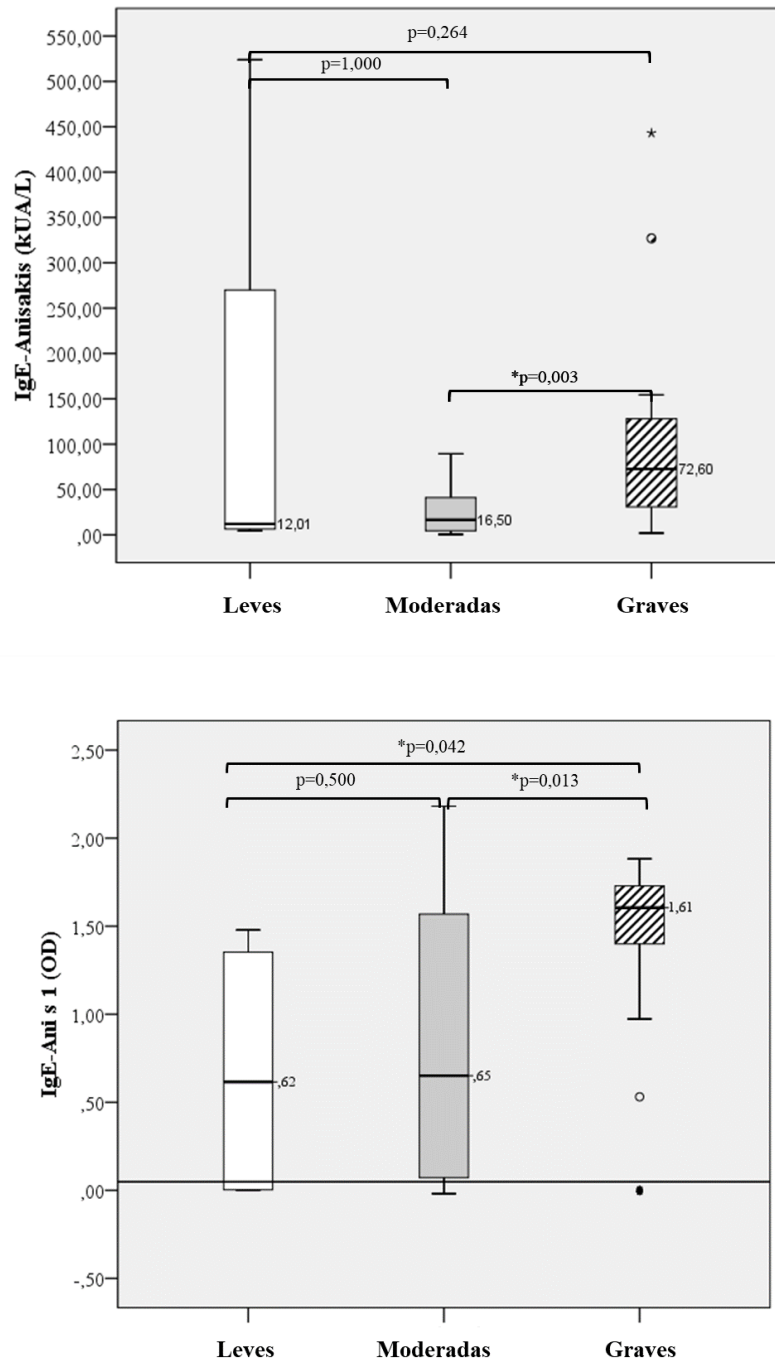


Figura 11. Valores de IgE específica a extracto completo de *Anisakis simplex* y a Ani s 1 en función de la gravedad de la reacción alérgica. *p < 0,05; ** p < 0,01.

Tabla 28. Comparación de resultados en función de la gravedad de la reacción alérgica

	Leve	Moderada	p	Leve	Grave	p	Moderada	Grave	p
IgE total (UI/mL)	124,40	338	0,500	124,40	441,50	0,101	338	441,50	0,076
IgE-<i>Anisakis</i> (kUA/L)	12,01	16,50	1,000	12,01	72,60	0,264	16,50	72,60	0,003**
IgE-Ani s 1 (OD)	0,62	0,65	0,500	0,62	1,61	0,042*	0,65	1,61	0,013*
IgE-Ani s 7 (OD)	0,82	1,23	0,505	0,82	1,42	0,210	1,23	1,42	0,097
Prueba cutánea (mm)	5,50	5,50	0,794	5,50	5,00	0,630	5,50	5,00	0,710

* p < 0,05; ** p < 0,01

Cuando se compararon los valores analíticos entre pacientes que habían sufrido una anafilaxia (reacciones graves) con los que no (reacciones leves y moderadas), se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los valores de IgE total (p=0,039), IgE específica a extracto completo (p=0,002) y a Ani s 1 (p=0,042). De nuevo, los resultados de la prueba cutánea y la IgE específica frente al alérgenos recombinante Ani s 7 no mostraron diferencias significativas (Tabla 29).

Tabla 29. Comparación de resultados en función de haber sufrido una reacción anafiláctica o leve-moderad.

SÍNTOMAS	IgE total IU/L	IgE – <i>Anisakis</i> (kUA/L)	Prueba cutánea (mm)	IgE -Ani s 1 (OD)	IgE -Ani s 7 (OD)
Sí	441,5	72,60	5,00	1,61	1,42
No	319,00	15,90	5,50	0,65	1,23
p	0,039*	0,002**	0,860	0,042**	0,066

* p < 0,05; ** p < 0,01

Dentro del total de pacientes que presentaron un cuadro de anafilaxia (n=24), todos fueron positivos para IgE específica frente a extracto completo mientras que 21 de ellos lo fueron para Ani s 1 atendiendo a los puntos de corte asumidos en la actualidad (Anadón et al., 2010; Ewan & Coote, 1990). Dentro de los que sufrieron reacciones menos graves (leves o moderadas; n=25), 20 de ellos también presentaron un resultado positivo (Tabla 30). Así de estos datos se puede extraer un sensibilidad del 87,5% y una especificidad del 20% para el Ani s 1 en la detección de pacientes que hayan sufrido reacciones graves (Tabla 31).

Tabla 30. Comparación de valores positivos de IgE-Ani s 1 (Trisakis-170) en función de haber sufrido una reacción anafiláctica

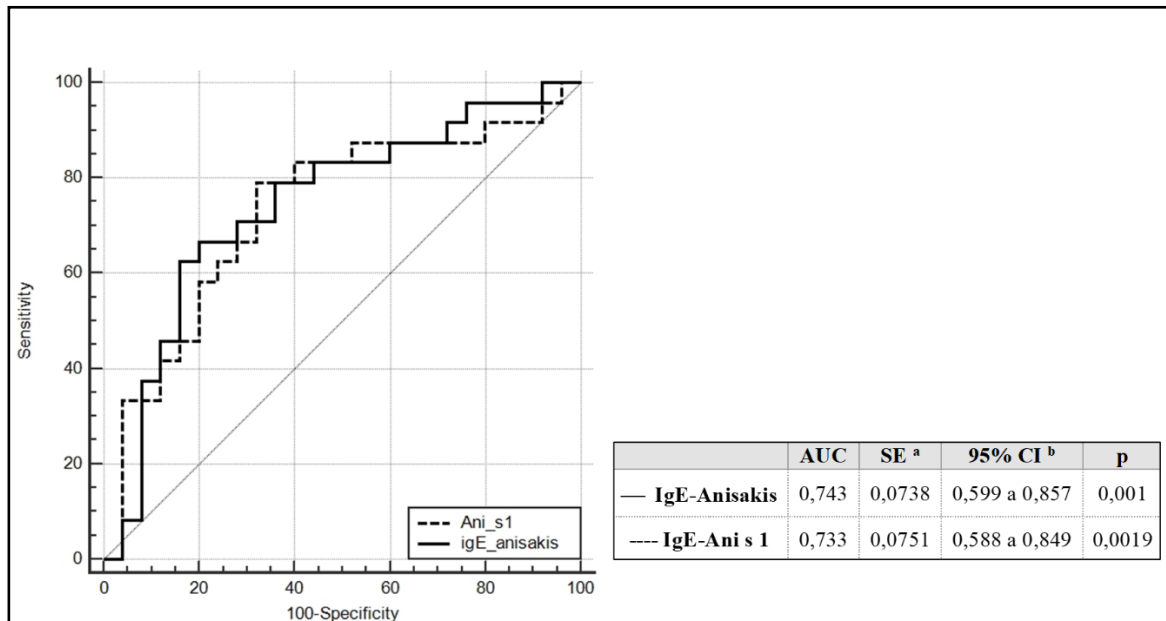
		Reacción anafiláctica	Reacción no anafiláctica
IgE-Ani s 1	Positivos	21 (87.5%)	20 (80%)
	Negativos	3 (12.5%)	5 (20%)

Tabla 31. Valores de sensibilidad y especificidad para la IgE-Ani s 1 (Trisakis-170) en el diagnóstico de una reacción anafiláctica por *Anisakis simplex*

	Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo
IgE-Ani s 1	87,5%	20,0%	51,0%	62,5%

Al obtener valores estadísticamente significativos entre diferentes grados de reacción tanto en la IgE específica a extracto completo y a Ani s1, se determinó una curva COR para valorar la capacidad de clasificar correctamente a los individuos según la gravedad del cuadro clínico de ambas pruebas.

Se obtuvo un AUC de 0,743 para la IgE a extracto completo y de 0,733 para la IgE a Ani s 1 (p=0,9054) (Figura 12) sin obtenerse diferencia estadísticamente significativas entre ellas (p=0,9054) (Tabla 32).



^aDeLong et al., 1988 ^b Binomial exact.

Figura 12. Curva COR para IgE-*Anisakis* (InmunoCAP) e IgE-Ani s 1 (Trisakis-170) en anafilaxia

Patrón de referencia: pacientes alérgicos con reacciones anafilácticas tras ingesta de pescado susceptible de contener *Anisakis simplex* (n= 24; 48,98%) frente a pacientes con reacciones leves-moderadas (n= 25; 51,02%).

Puntos de corte: IgE-*Anisakis*, 0.35 kU_A/L; IgE-Ani s 1, 0.09.

Tabla 32. Comparación de datos de Curva COR para IgE-*Anisakis* (InmunoCAP) e IgE-Ani s 1 (Trisakis-170) en anafilaxia

IgE- <i>Anisakis</i> vs IgE-Ani s 1	
Diferencia entre áreas	0,0100
Error estándar ^a	0,0841
Intervalo de confianza 95%	-0,155 a 0,175
Z-test	0,119
Nivel de significación	P = 0,9054

^aDeLong et al., 1988

El Índice de Youden estimó como punto de corte más equilibrado entre sensibilidad y especificidad para la IgE a extracto completo un valor de $\geq 44,8$ kUA/L, con una

sensibilidad del 66,67% y una especificidad del 80,0% (Tabla 33). La razón de probabilidad positiva fue de 3,33 y la razón de probabilidad negativa 0,42 (Anexo 11.6.4). Para la IgE frente a Ani s 1, el punto óptimo calculado fue de >1,336 con un sensibilidad del 79,17% y una especificidad del 68,00% (Tabla 33). En este caso, la razón de probabilidad positiva fue de 2,47 y la negativa de 0,31 (Anexo 11.6.5).

Tabla 33. Índice de Youden para los valores de IgE-*Anisakis* (InmunoCAP) e IgE-Ani s 1 (Trisakis-170) en anafilaxia

	IgE-<i>Anisakis</i>	IgE-Ani s 1
Índice de Youden	0,4667	0,4717
Intervalo de confianza 95%^c	0,2038 a 0,6300	0,2249 a 0,6732
Criterio de asociación	>44,8	>1,336
Intervalo de confianza 95%^c	>16,5 a >89,4	>0,757 a >1,702
Sensibilidad	66,67	79,17
Especificidad	80,00	68,00

^c BC_a bootstrap confidence interval (1000 iterations; random number seed: 978).

**7. RESULTADOS:
PACIENTES CON
DISPEPSIA CRÓNICA**

7. RESULTADOS: PACIENTES CON DISPEPSIA CRÓNICA

7.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS

Fueron reclutados 14 pacientes con diagnóstico de dispepsia crónica, remitidos desde las consultas del Servicio de Digestivo del HUMV, con edades comprendidas entre los 28 y los 70 años (media 50,29±15,08 años) siendo la mitad de ellos, mujeres (n=7).

El 76,9% vivía en la costa y 4 de los 14 pacientes (28,57%) se dedicaba a trabajos relacionados con la manipulación directa de pescado de manera habitual (Tabla 34).

Tabla 34. Datos demográficos de los pacientes con dispepsia

Pacientes con dispepsia (n=14)	
Mujeres (n)	7
Edad, años (DE)	50,29 (15,08)
Residencia en costa (%)	76,9
Profesión relacionada con la manipulación de pescado (%)	28,57

DE: desviación estándar. Porcentajes referidos al total de casos válidos.

7.2 CARACTERÍSTICA CLÍNICAS Y ANTECEDENTES DE ATOPIA

El grupo de pacientes con dispepsia, por criterios de inclusión, referían clínica de molestias en el tracto gastrointestinal superior pero negaban síntomas alérgicos relacionados con la ingesta de pescado o empeoramiento de sus molestias digestivas habituales tras su consumo.

Dos de los pacientes referían tener dermatitis inespecífica, uno de ellos padecer urticaria crónica, otro asma bronquial y uno de los pacientes alergia a medicamentos.

7.3 HALLAZGOS ENDOSCÓPICOS Y ESTUDIO DE INFECCIÓN POR *HELICOBACTER PYLORI*

De los 14 pacientes incluidos, se realizó endoscopia digestiva alta a 13 de ellos en el contexto del estudio habitual de dispepsia del Servicio de Digestivo del HUMV.

Seis de ellos presentaron gastritis, 4 hernia de hiato (de los que 3 también presentaban gastritis), en uno de ellos se diagnosticó reflujo gastroesofágico y cinco de los pacientes presentaron gastroscopias normales (Tabla 35).

Dentro de los 14 pacientes, en dos de ellos se objetivaron bacilos curvos sugestivos de *Helicobacter pylori* con hallazgos anatomopatológicos compatibles, y en 5 de ellos se obtuvo una IgG positiva para el bacilo (Tabla 35).

Tabla 35. Datos demográficos, atopia, hallazgos endoscópicos y detección de *Helicobacter pylori* en los pacientes del grupo de dispepsia

Paciente	Género	Edad	Atopia	Hallazgos endoscópicos	<i>Helicobacter pylori</i>
1	F	56	no	Reflujo gastroesofágico	+/tratado
2	F	58	no	normal	+/ tratado
3	F	66	no	normal	ND
4	F	44	Urticaria/ Angioedema	Hiatal hernia/Gastritis	-
5	F	70	Dermatitis	Hiatal hernia	+
6	M	68	no	Hiatal hernia/ Gastritis	+/tratado
7	F	28	no	Hiatal hernia/Gastritis	+/tratado
8	M	53	Dermatitis	normal	-
9	F	41	Asma	normal	+
10	M	37	no	Gastritis	ND
11	M	32	no	ND	ND
12	M	54	no	Gastritis	-
13	M	29	no	Gastritis	ND
14	M	68	Alergia a fármacos	normal	-

ND: no determinado; +, positivo; -, negativo.

7.4 RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS CONVENCIONALES

Dentro del grupo de pacientes con dispepsia, un 28,57 % presentaron valores de IgE total por encima de 100 IU/mL, un 57,14% resultados positivos para la IgE a extracto completo de *Anisakis simplex* (>0,35 kUA/L) y la mitad presentaron una prueba cutánea positiva (Tabla 36).

Tabla 36. Valores positivos en pacientes con dispepsia para IgE total, IgE-*Anisakis* y prueba cutánea

Pacientes con dispepsia (n=14)	
IgE total positiva, n (%)	4 (28,57%)
IgE- <i>Anisakis</i> positiva, n (%)	8 (57,14%)
Prueba cutánea positiva, n (%)	7 (50%)

Los valores de la mediana \pm IQ₂₅₋₇₅ para IgE total fueron de 47,7 \pm 245,55 UI/mL y para la IgE específica frente a extracto completo de *Anisakis simplex* 1,89 \pm 14,39 kUA/L. Para la prueba cutánea fue de 3,00 \pm 5,12 (Tabla 37).

Tabla 37. Resultados de IgE total, IgE-*Anisakis* y prueba cutánea con extracto completo en pacientes con dispepsia

Pacientes con dispepsia (n=14)	
IgE total (IU/mL)	47,7 \pm 245,55
IgE- <i>Anisakis</i> (kUA/L)	1,89 \pm 14,39
Prueba cutánea (mm)	3,00 \pm 5,12

Datos expresados en mediana \pm IQ₂₅₋₇₅. # El número de pacientes con dispepsia analizados para estas variables fue de 13.

7.5 RESULTADOS DE IGE ESPECÍFICA FRENTE A ANI S 1 Y ANI S 7

De los 13 pacientes con dispepsia en los cuales se analizaron las IgE específicas frente a los alérgenos recombinantes Ani s 1 y Ani s 7, dos de los pacientes presentaron resultado positivo para Ani s 1, cuatro para Ani s 7 y dos para ambos moleculares (Tabla 38). Los valores de IgE frente al alérgeno recombinantes Ani s 1 fue de 0,012 \pm 0,021 y de 0,042 \pm 1,33 para Ani s 7 (Tabla 39).

Tabla 38. Valores positivos de IgE-Ani s 1 e IgE-Ani s 7 (Trisakis-170) en pacientes con dispepsia

Pacientes con dispepsia (n=13)	
IgE-Ani s 1 positivo, n (%)	2 (15,38%)
IgE-Ani s 7 positivo, n (%)	6 (46,15%)
IgE-Ani s 1, IgE-Ani s 7 positivos, n (%)	2 (15,38%)

Tabla 39. Resultados de IgE total, IgE-Anisakis, IgE-Ani s 1 e IgE-Ani s 7 (Trisakis-170) en pacientes con dispepsia

Pacientes con dispepsia (n=13)	
IgE-Ani s 1 (OD)	0,012±0,021
IgE-Ani s 7 (OD)	0,042±1,33

Datos expresados en mediana±IQ₂₅₋₇₅

Tabla 40. Resultados de las pruebas analíticas de los pacientes del grupo de dispepsia

Paciente	IgE total (IU/mL)	IgE-Anisakis (kUA/L)	IgE-Ani s 1 (OD)	IgE-Ani s 7 (OD)
1	80,90	0,00	0,005	-0,001
2	18,10	0,01	0,014	0,015
3	42,00	12,70	0,030	1,351
4	26,90	2,95	0,010	0,042
5	636,00	8,58	0,011	0,421
6	489,00	19,50	1,105	1,521
7	69,50	0,01	0,003	0,000
8	47,10	9,10	1,354	1,312
9	8,50	0,84	0,007	0,587
10	418,00	24,00	0,012	1,430
11	209,00	23,00	ND	ND
12	0	0	0	0
13	4,92	0	0,024	0
14	48,30	0,05	0,012	0,002

ND: no determinado.

7.6 COMPARACIÓN DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS: DISPEPSIA, ALERGIA Y SENSIBILIZACIÓN ASINTOMÁTICA

Se realizó una comparación de los resultados de las pruebas diagnósticas de los pacientes con dispepsia con el grupo de pacientes alérgicos y con el de los donantes sensibilizados asintomáticos, objetivándose exclusivamente diferencias estadísticamente significativas con el primero de ellos (Tablas 41 y 42).

Tabla 41. Comparación de resultados de pruebas diagnósticas entre pacientes con dispepsia y pacientes alérgicos

	Pacientes con dispepsia (n=14)	Alérgicos (n=49)	p
IgE-Anisakis (kUA/L)	1,89±14,39	37,80±79,74	0,000**
IgE-Ani s 1 (OD)[#]	0,012±0,021	1,47±1,47	0,001**
IgE-Ani s 7 (OD)[#]	0,042±1,33	1,34±0,90	0,001**
Prueba cutánea (mm)[#]	3,00±5,12	5,50 ± 4,5	0,001**

Datos expresados en mediana±IQ₂₅₋₇₅

[#]El número de pacientes con dispepsia analizados para estas variables fue de 13.

* p < 0,05; ** p < 0,01

Tabla 42. Comparación de resultados de pruebas diagnósticas entre pacientes con dispepsia y donantes sensibilizados asintomáticos

	Pacientes con dispepsia (n=14)	Donantes sensibilizados asintomáticos (n=46)	p
IgE-Anisakis (kUA/L)	1,89±14,39	1,79±4,71	0,107
IgE-Ani s 1 (OD)[#]	0,012±0,021	0,13±1,29	0,063
IgE-Ani s 7 (OD)[#]	0,042±1,33	0,57±1,22	0,108
Prueba cutánea (mm)[#]	3,00±5,12	5,00 ^y ± 1,5	0,130

Datos expresados en mediana±IQ₂₅₋₇₅. ^y La prueba cutánea fue realizada en 21 donantes sensibilizados.

[#]El número de pacientes con dispepsia analizados para estas variables fue de 13. * p < 0,05; ** p < 0,01

7.7 RELACIÓN ENTRE RESULTADOS DIAGNÓSTICOS *IN VITRO*, HALLAZGOS ENDOSCÓPICOS Y *HELICOBACTER PYLORI*

Se compararon los resultados de las pruebas diagnósticas de sensibilización al *Anisakis simplex* en relación a la presencia de alteraciones endoscópicas o la infección por *Helicobacter pylori* sin obtenerse diferencias estadísticamente significativas (Tabla 43). Sin embargo, sí se observaron valores más altos en aquellos pacientes con dispepsia que presentaban una gastroscopia normal y/o *Helicobacter pylori* negativo, especialmente en el caso de la IgE frente a *Anisakis 7* ($p=0,089$ en individuos con gastroscopia sin alteraciones) (Figura 13).

Tabla 43. Comparación de resultados de pruebas diagnósticas *in vitro* entre pacientes con dispepsia según hallazgos endoscópicos y *Helicobacter pylori*

	Hallazgos endoscópicos			<i>Helicobacter pylori</i>		
	Normal (n=5)	Alterado (n=8)	p	Negativo (n=4)	Positivo (n=5)	p
IgE total (IU/mL)	209±440,2	47,7±47,38	0,661	69,5±285,7	61,45±501,05	0,855
IgE-<i>Anisakis</i> (kUA/L)	19,50±23,07	1,50±8,97	0,123	9,10±23,07	5,76±14,39	0,410
IgE-<i>Anisakis 1</i> (OD)	0,01±0,82	0,01±0,02	0,349	0,01±1,01	0,01±0,29	0,670
IgE-<i>Anisakis 7</i> (OD)	1,01±1,34	0,02±1,09	0,089	0,95±1,25	0,23±1,35	0,670
Prueba cutánea (mm)	5,00±5,25	3,00±5,62	0,880	5,00±4,25	2,25±5,62	0,512

Datos expresados en mediana±IQ₂₅₋₇₅

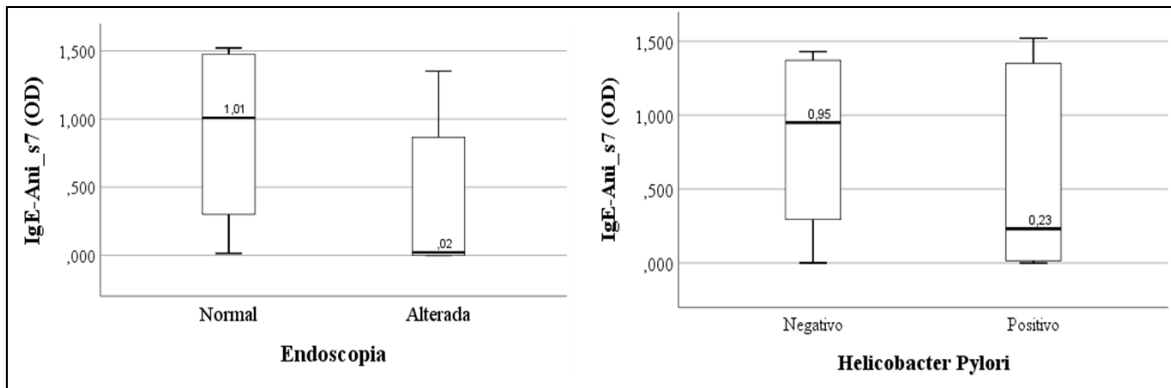


Figura 13. Valores de IgE específica frente al alérgeno recombinantes Ani s 7 en pacientes con dispepsia según hallazgos endoscópicos y *Helicobacter pylori*.

7.8 HÁBITOS DE CONSUMO DE PESCADO

En el grupo de pacientes con dispepsia, siguiendo la tendencia de los otros dos grupos, la mayoría declaró consumir pescado entre 2 y 3 veces por semana (53,8%) y mayoritariamente fresco (71,4%). Las especies más frecuentemente consumidas fueron la merluza (61,5%), los bocartes (61,5%) y el bonito (69,2%). Un 14,3% refirió tolerar pescado congelado, un 23,1% consumir pescado crudo y el 16,7% realizar conservas en su domicilio (Tabla 44).

Tabla 44. Características de hábitos de consumo de pescado en el grupo de pacientes con dispepsia

Pacientes con dispepsia (n=14)	
Frecuencia de consumo	n (%)
Nunca	0 (0%)
Diario	1 (7,7%)
2-3 veces/semana	7 (53,8%)
1-2 veces/semana	3 (23,1%)
<1 veces/semana	2 (15,4%)
Método de conservación	
Fresco	10 (71,4%)
Ultracongelado	1 (7,7%)
Congelado en el domicilio	4 (30,8%)
Lugar de preparación	
Restaurante	1 (8,3%)
En el domicilio	2 (14,3%)
Envasado	2 (16,7%)
Técnica de cocinado	
Crudo	1 (7,1%)
Cocido	2 (15,4%)
Frito	9 (69,2%)
Asado	8 (66,7%)
Marinado	0 (0%)
Especies de pescado	
Merluza	8 (61,5%)
Anchoa/boquerón	8 (61,5%)
Atún	4 (30,8%)
Bonito	9 (69,2%)
Sardina	4 (30,8%)
Bacalao	6 (46,2%)
Origen	
Salvaje	8 (61,5%)
Enlatado	5 (38,5%)
Piscifactoría	2 (15,4%)
Toleran pescado congelado	2 (14,3%)
Consumo de pescado crudo	3 (23,1%)
Realización de conservas caseras	2 (16,7%)

Resultados obtenidos del cuestionario anónimo (Anexo 11.6).
Porcentajes referidos al total de casos válidos.

8. DISCUSIÓN

8. DISCUSIÓN

8.1 PREVALENCIA DE SENSIBILIZACIÓN AL *ANISAKIS SIMPLEX* EN CANTABRIA

Considerando la muestra de 403 donantes de sangre incluidos en el estudio como población representativa de Cantabria, se obtuvieron unos valores de sensibilización al *Anisakis simplex* del 12,65%, resultado similar a los obtenidos previamente en estudios realizados en otras regiones de España (Valiñas et al., 2001). Un estudio multicéntrico (Aizpuru et al., 2001) revelaba que según el área geográfica, diferenciadas por la frecuencia de consumo de pescado, la sensibilización en pacientes españoles asintomáticos variaba de un 5% a casi un 16%, con una media del 13% siendo mayor en la costa y el centro del país (Madrid).

En nuestro estudio, si atendemos a aquellos donantes que negaban presentar síntomas tras la ingesta de pescado (aquellos considerados asintomáticos), el porcentaje de sensibilización fue del 12,33%, muy similar.

Esto refleja, que aplicando en esta Comunidad los puntos de corte actuales para la IgE específica al parásito ($>0,35$ kUA/L), serían identificados sujetos sensibilizados pero que muy probablemente no se ajustase a la prevalencia de alergia al *Anisakis simplex*.

8.2 FACTORES DEMOGRÁFICOS Y HÁBITOS DE CONSUMO RELACIONADOS CON EL DESARROLLO DE SENSIBILIZACIÓN EN LA POBLACIÓN DE CANTABRIA

Al comparar las variables demográficas en el grupo de donantes entre aquellos sensibilizados al *Anisakis simplex* y los que no lo estaban, se objetivaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la edad, con resultados muy similares en

términos absolutos (43,06 años y 48,27 años, respectivamente) pero mayores en aquellos donantes sensibilizados ($p=0,006$), probablemente por una mayor exposición acumulada en el tiempo.

Los hábitos de consumo de pescado relacionados con la presencia de larvas vivas del parásito como la ingesta diaria y el consumo de pescado en crudo fueron esperablemente más prevalentes en aquellos donantes sensibilizados ($p=0,033$ y $p=0,004$, respectivamente), mientras que los que no lo estaban presentaron un mayor consumo de pescado ultracongelado y en restaurantes. Como dato llamativo, la merluza, especie relacionada con una alta parasitación por *Anisakis simplex*, fue más consumida por aquellos donantes no sensibilizados ($p=0,039$). Esto podría deberse a que al estar más publicitado el riesgo que supone su ingesta sin congelación previa, la población general tiene una mayor concienciación a la hora de seguir las normas de prevención (AESAN, 2016).

8.3 FACTORES DEMOGRÁFICOS Y HÁBITOS DE CONSUMO RELACIONADOS CON EL DESARROLLO DE SENSIBILIZACIÓN CLÍNICAMENTE RELEVANTE

Al analizar variables demográficas entre pacientes alérgicos y aquellos donantes sensibilizados asintomáticos, la distribución por género y edad en ambos grupos presentó diferencias significativas con un predominio de mujeres en el grupo de los pacientes alérgicos ($p<0,001$) y con edad media más baja en el grupo de donantes sensibilizados asintomáticos ($p=0,01$). Se ha postulado una desviación del sistema inmunitario a una respuesta Th2 en el género femenino en probable relación con cambios hormonales cíclicos fundamentalmente orquestados por los estrógenos, relacionados con la activación de los inflamomas. Esta estimulación deriva en un estado de inflamación crónica

favoreciendo el desarrollo de patologías autoinmunes (Selmi & Gershwin, 2019). Así, la prevalencia de patología alérgica es mayor en las mujeres, lo que concuerda con los datos observados en nuestro estudio. Por otra parte, la edad media de los donantes de sangre por lo general se corresponde con adultos jóvenes sin antecedentes de patologías previas (Fuente: Federación Española de Donantes de Sangre 2018), como también se refleja en nuestros resultados.

En nuestra serie, se observó que una mayor frecuencia de ingesta de pescado y en preparación cruda o escasamente cocinado en pacientes alérgicos frente a los donantes sensibilizados asintomáticos ($p=0,142$ y $0,012$; respectivamente). Este hecho se debe a que ambas conductas dietéticas aumentan la posibilidad de ingerir larvas vivas del parásito en estadio infectivo L3 (Mladineo et al., 2014; Valiñas et al., 2001).

Así mismo, la ingesta de especies de piscifactoría, con menor riesgo de ser parasitadas por el *Anisakis simplex*, fue mayor en los sensibilizados asintomáticos. El consumo de pescado en restaurantes fue significativamente mayor en los pacientes alérgicos (28,3% frente al 2,8%; $p=0,002$), lo que induce a pensar que las normas legislativas respecto a la conservación y preparación de las especies marinas para consumo humano no se siguen de manera más estricta en el ámbito comercial (AESAN, 2016). De manera llamativa, no se objetivaron diferencias significativas en cuanto al consumo de pescado fresco. Este hecho se puede explicar debido a que Cantabria es una región que por su localización geográfica y tradición alimentaria, presenta un consumo elevado y generalizado en toda la población analizada.

8.4 HIPERSENSIBILIDAD AL *ANISAKIS SIMPLEX*, UNA “GASTRO-ALERGIA” GRAVE

Al analizar los aspectos clínicos de las reacciones sufridas por los pacientes alérgicos de nuestra muestra, se observó éstas sucedían en su mayoría dentro de las 6 primeras horas

tras la ingesta, lo que concuerda con la definición aceptada de cuadro inmediato que caracteriza a las reacciones alérgicas alimentarias (Muraro et al., 2017). La alergia frente al *Anisakis simplex* induce habitualmente síntomas gastrointestinales por acción local de la larva, acompañados de los sistémicos por activación de los mastocitos en sus diferentes localizaciones (respiratorios, cutáneos, cardiovasculares) (Chung & Lee, 2014; Herrador et al., 2019), generando cuadros graves como se objetiva en nuestro estudio. Basándonos también en las características inmunopatogénicas de la alergia a este parásito (Alvaro Daschner et al., 2012), se justificaría que el 75% de las anafilaxias registradas en nuestro estudio incluyeran afectación gastrointestinal (anisakiasis gastroalérgica).

8.5 BAJA ESPECIFICIDAD DE LA PRUEBA CUTÁNEA

La mediana del valor de la prueba cutánea con extracto completo del parásito no mostró diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de alérgicos y aquellos sensibilizados asintomáticos ($p=0,074$). Teniendo en cuenta que la totalidad de pacientes alérgicos presentó una prueba positiva (criterio de inclusión) y que 13 de los 21 donantes sensibilizados asintomáticos también, se podría establecer una especificidad del 61,9%, similar a estudios previos (Chung & Lee, 2014). Un dato llamativo es que los valores de la prueba cutánea no presentaron una correlación estadísticamente significativa entre el momento de la reacción y el tiempo transcurrido hasta su realización. Este hecho puede estar en relación a que la prueba cutánea es una técnica manual, con variabilidad en la realización e interpretación de la misma. Además, generalmente la prueba cutánea se realiza dentro del estudio alergológico rutinario, que incluye otros alérgenos, pudiendo arrastrarse parte de otros antígenos y generando falsos positivos. Estudios previos empleando un extracto compuesto exclusivamente por el alérgeno Ani s 1, mostraron valores de sensibilidad y especificidad del 100% en una población de pacientes alérgicos (Gamboa et al., 2012; Martínez-Aranguren et al., 2014). En nuestro caso, el extracto

utilizado fue una mezcla de antígenos del parásito por lo que también se pueden ver positividad por reactividad cruzada.

8.6 RENTABILIDAD DIAGNÓSTICA PARA DIFERENCIAR ENTRE SENSIBILIZACIÓN ASINTOMÁTICA Y ALERGIA

El diagnóstico de alergia se basa en la presencia de anticuerpos IgE frente a un alérgeno y el desarrollo de síntomas tras exposición al mismo. En el caso del *Anisakis simplex*, su condición de agente infeccioso puede estimular la producción policlonal de IgE específica pudiendo no estar en relación con el desarrollo de clínica alérgica (Ishizaka et al., 1976, Daschner & Pascual, 2005; Daschner et al., 2000, 2012).

En nuestro estudio, al comparar los resultados de IgE frente al extracto completo, al Anis 1 y al Anis 7, se obtuvieron valores mayores en los pacientes alérgicos con diferencias estadísticamente significativas respecto a los donantes sensibilizados asintomáticos concluyendo su capacidad de diferenciar ambos escenarios.

Para determinar qué pruebas diagnósticas *in vitro* presentaba una mayor correlación con el desarrollo de síntomas en población sensibilizada, se calculó una curva COR.

Como patrón de referencia se estableció el diagnóstico de alergia al *Anisakis simplex* como la aparición de síntomas durante las primeras 24 horas posteriores a la ingesta de pescado susceptible de contener larvas vivas del parásito, habiéndose descartado alergia al pescado.

Para la IgE frente a extracto completo, el AUC fue de 0,892, similar a estudios previos en los que incluso se utilizaban puntos de corte más altos (Martínez-Aranguren et al., 2014). En cuanto al Anis 1 y Anis 7, las AUC fueron de 0,675 y 0,678, respectivamente. Al compararse entre ellas, la IgE frente a extracto completo presentaba diferencias estadísticamente significativas con los moleculares mientras que entre ellos no la tenían.

Todo ello, indica que en nuestra población la determinación de IgE al extracto completo presenta una mayor rentabilidad para diagnosticar alergia al *Anisakis simplex*.

En estudios previos que analizaban y enfrentaban estas tres determinaciones, la positividad al Ani s 1, Ani s 7 o ambos, eran consideradas prueba de referencia para confirmar alergia al parásito (Anadón et al., 2010) por lo que nuestros resultados no pueden compararse. De hecho, este es el primer estudio que con una población alérgica al *Anisakis simplex* bien caracterizada (por cronología, agente casual, habiéndose descartado alergia al pescado), se enfrentan las tres pruebas diagnósticas.

El motivo de que la IgE a extracto completo supere la rentabilidad diagnóstica respecto a la detección de IgE frente a los componentes moleculares puede radicar en la existencia de sensibilización a otros alérgenos del *Anisakis simplex* con relevancia clínica, más allá del Ani s 1 y Ani s 7.

Más estudios sobre la función biológica de los alérgenos del parásito ya caracterizados son necesarios para poder establecer su y papel en la producción de IgE y en el desarrollo de síntomas.

8.7 IgE A EXTRACTO COMPLETO: OPTIMIZACIÓN DEL PUNTO DE CORTE PARA UNA MAYOR PRECISIÓN DIAGNÓSTICA.

En estudios previos, el valor de 0,35 kUA/L se ha considerado como punto de corte de la IgE específica frente a extracto completo de *Anisakis simplex* para establecer un resultado positivo (Martínez-Aranguren et al., 2014); Ewan & Coote, 1990), demostrándose en algunos de ellos que valores por encima de 17,5 kUA/L (clase 3), presentan una mayor correlación con el desarrollo de reacciones alérgicas (Anadón et al., 2010). En nuestros resultados, ya valores inferiores a 3,5 kUA/L mostraron diferencias estadísticamente significativas entre alérgicos y donantes sensibilizados asintomáticos

($p < 0,000$) con una sensibilidad y especificidad de aproximadamente un 90% y 67,39% respectivamente con una razón de verosimilitud de 2,8-0,12.

Al calcular el Índice de Youden tratando de optimizar el punto de corte de IgE específica frente al *Anisakis simple*, se obtuvo un resultado de 7,9 kUA/L. Dicho valor, presentaba una sensibilidad del 79,59% y una especificidad del 84,78% con una excelente significación clínica (razón de verosimilitud de 5,2–0,24). De esta manera, un resultado positivo sería 5,2 veces más probable en pacientes alérgicos respecto a los asintomáticos y uno negativo, sería 4,2 veces (es decir, 1/0,24) más probable en pacientes asintomáticos (Anexo 11.6.1).

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, podría afirmarse que valores de IgE específica a extracto completo de *Anisakis simplex* por encima de 3,5 kUA/L, podría ser un buen punto de corte como prueba de cribado por su adecuada sensibilidad para identificar en población general a pacientes alérgicos o con potencial riesgo de desarrollar alergia al parásito. Por otro lado, a la hora de confirmar el diagnóstico de alergia en pacientes con clínica sugestiva, el valor de 7,9 kUA/L sería útil como punto de corte dada su elevada especificidad.

8.8 PATRÓN DE SENSIBILIZACIÓN A COMPONENTES MOLECULARES: Ani s 1 MAYOR CORRELACIÓN CLÍNICA QUE Ani s 7.

Los valores de medianas tanto del Ani s 1 como del Ani s 7, presentaron diferencias significativas al comprar los resultado de pacientes alérgicos y donantes asintomáticos, objetivándose así un patrón de sensibilización diferente en función de la presencia de clínica alérgica tras contacto con el *Anisakis simplex*.

En cuanto a la frecuencia de positividades en la población de pacientes alérgicos, solo dos de ellos fueron negativos para la IgE frente a Ani s 7 (un 4,1%), mientras que 11

(22,4%) lo fueron para Ani s 1. En nuestra población, ningún suero fue positivo para Ani s 1 y negativo para Ani s 7. Este hallazgo confirma datos previamente publicados sobre la inmunodominancia de la respuesta IgE a estos alérgenos (principalmente al Ani s 7) tras un contacto con el *Anisakis simplex* vivo (Anadón et al., 2010, 2009; Rodríguez et al., 2008). Así mismo, las proporciones de pacientes alérgicos positivos a ambos moleculares obtenidas, también se corresponden con estudios previos realizados en sujetos con antecedentes de cuadros de anisakiasis gastroalérgica o urticaria crónica inducida por sensibilización al parásito (Cuéllar et al., 2012).

Sin embargo, el alto porcentaje de resultados positivos para Ani s 1 en la población alérgica (77,5%) y el bajo valor entre los sensibilizados asintomáticos (52,2%), en comparación con los altos resultados obtenidos para Ani s 7 en ambas poblaciones (95,9% y 89,1%, respectivamente), sugiere que el Ani s 1 es un alérgeno clínicamente relevante, o al menos, más que el Ani s 7 en la inducción de sintomatología alérgica.

A pesar de que se ha objetivado que el Ani s 7 es el alérgeno del *Anisakis simplex* más inmunodominante en cuanto a la producción de IgE (en probable relación con su estructura repetitiva y su alto contenido en residuos de cisteína) (Rodríguez et al., 2008), también se ha documentado que induce de manera simultánea, altos niveles de anticuerpos IgG4 durante el contacto con larvas vivas del parásito en el contexto de cuadros de anisakiasis gastroalérgica. En consecuencia, el Ani s 7 podría tener un papel protector frente al desarrollo de síntomas alérgicos graves en relación con el *Anisakis simplex* (A. Daschner et al., 2014).

Por el contrario, el Ani s 1 tiene probablemente mayor concordancia con el desarrollo de síntomas alérgicos debido a que estructuralmente está relacionado con la familia de Inhibidores de serina proteasas tipo Kunitz, considerados alérgenos con gran impacto clínico (Aalberse, 2000; Moneo et al., 2000; Radauer et al., 2008).

Con los actuales puntos de corte, la sensibilidad y especificidad en nuestra cohorte fue de un 61,3% y 66,7% para el Anisakis 1; y de un 95,5% y 10,9% para el Anisakis 7, respectivamente. Previamente, se han publicado valores de sensibilidad similares (Anadón et al., 2010; Cuéllar et al., 2012) pero no así de especificidad, lo cual se debe a las diferencias en el patrón de referencia. En el trabajo de Anadón et al. (2010), se asumía un resultado positivo como confirmación de infección/contacto con el parásito lo que le otorgaba a la prueba un 100% de especificidad.

Al analizar los resultados en pacientes alérgicos y sensibilizados asintomáticos en función de la presencia o no de síntomas, se obtuvieron valores extremadamente altos tanto para el Anisakis 1 como para el Anisakis 7 (OD= 1,464 y OD= 0,589, respectivamente) por alcanzar una sensibilidad y especificidad aceptables (51,02% y 86,9 para Anisakis 1; y 81,6% y 52,17% para Anisakis 7) y mejorar su significación clínica (razón de verosimilitud de 3,91-0,56 y 1,71-0,35; respectivamente).

Esto induce a pensar que más estudios son necesarios para establecer nuevos puntos de corte en ambos moleculares como pruebas diagnósticas que determinen alergia al *Anisakis simplex* y no solo como confirmación de contacto con el parásito.

8.9 INFLUENCIA DE LA REACTIVIDAD CRUZADA Y EL TIEMPO ENTRE REACCIÓN Y DETERMINACIÓN ANALÍTICA

El *Anisakis simplex* comparte epítomos con otras fuentes alérgicas entre los que se encuentran los ácaros del polvo doméstico como el *Dermatophagoides pteronyssinus* y los crustáceos (Carballeda-Sangiao et al., 2016; Lin et al., 2012; Lorenzo et al., 2000; Moneo et al., 2005; Shafique et al., 2012; Verga et al., 2017).

En nuestro estudio, fueron analizados 43 de los sueros de donantes sensibilizados asintomáticos y se objetivó que todos ellos presentaban sensibilización al *Dermatophagoides pteronyssinus* mientras que solo un 13,9 % (6 de los 43), presentaban IgE positiva a gamba. Debido a que varios alérgenos del *Anisakis simplex* presentan reactividad cruzada con ácaros, insectos y crustáceos (como el Ani s 3 y Der p 10—tropomiosinas; o el Ani s 2 y Der p 11—paramiosinas) (Bernardini et al., 2005; Carballeda-Sangiao et al., 2016), las correlaciones observadas entre las IgE específicas a *Dermatophagoides Pteronyssinus*, *Anisakis simplex* y gamba podrían ser debidas a esa reactividad cruzada o alternativamente, a que los pacientes están sensibilizados a varios alérgenos de manera simultánea. A pesar de que con los datos obtenidos, ninguna hipótesis puede ser descartada, la alta prevalencia de sensibilización a los ácaros en nuestra región (<https://alergiaweb.files.wordpress.com/2014/03/mapa-acarolc3b3gico-de-espac3b1a-de-l-leti.pdf>), induce a pensar que la segunda posibilidad es más probable. Además, la reactividad cruzada entre antígenos como la tropomiosina, presentes en las tres fuentes alérgicas, impulsan la producción de IgE generando falsos positivos en la detección de IgE específicas a alérgenos completos. Sin embargo, con la detección de IgE frente a componentes moleculares mediante ELISA (Trisakis-170) esto debería ser más improbable. Al realizar un análisis de las correlaciones entre las pruebas diagnósticas frente al *Anisakis simplex* y las IgE específicas a *Dermatophagoides pteronyssinus* y a gamba, se obtuvo correlaciones estadísticamente significativa entre todas ellas excepto con el Ani s 1. Sin embargo sí se obtuvo con la detección de IgE frente a Ani s 7, hallazgo que vuelve a apoyar la cosensibilización en nuestra muestra de donantes, ya que el Ani s 7 es un polipéptido de 283 residuos sin similitud destacable con otros alérgenos relevantes para los humanos (Rodríguez et al., 2008).

Comparando los resultados obtenidos de la detección de IgE específica mediante ImmunoCAP al extracto completo y los del Trisakis-170, solo 5 sueros fueron negativos con este último en la población de donantes sensibilizados asintomáticos. Esto plantea la pregunta de si son falsos positivos por reactividad cruzada, que se asocian frecuentemente al método ImmunoCAP, o resultados falsos negativos debido a un pequeño número de sujetos infectados que no inducen anticuerpos frente a los alérgenos Ani s 1 y Ani s 7.

Una respuesta preferente a otros antígenos del *Anisakis simplex* como el Ani s 4 (cistatina), Ani s 5 (proteína SXP/RAL), Ani s 11 o Ani s 13 (hemoglobina) (Carballeda-Sangiao et al., 2016; González-Fernández et al., 2017; Rodríguez-Mahillo et al., 2007), podría explicar por qué algunos sueros positivos para la IgE a extracto completo (ImmunoCAP) son negativos cuando se determina la IgE frente al Ani s 1 y Ani s 7 (Trisakis-170). No se puede tampoco descartar la posibilidad de reactividad cruzada debido a infecciones por otros parásitos como el *Ascaris*, descrito como posible causa de detección de sensibilización al *Anisakis simplex* en pacientes asintomáticos (Brusca et al., 2020; Carballeda-Sangiao et al., 2014; Viñas et al., 2020).

En cuanto a la influencia que ejerce el tiempo transcurrido entre la reacción alérgica y la extracción analítica sobre los resultados de IgE específica frente al extracto completo, Ani s 1 y Ani s 7, Anadón et al. (2010) había demostrado la existencia de una correlación negativa y que los valores de IgE frente al Ani s 1 permanecían más tiempo positivos. En nuestro trabajo, ambos hallazgos se confirman siendo la determinación de Ani s 1 la menos dependiente del tiempo con una correlación negativa pero sin significación estadística.

8.10 IgE A EXTRACTO COMPLETO Y Ani s 1 COMO INDICADORES DE GRAVEDAD EN LA ALERGIA AL *ANISAKIS SIMPLEX*

Al analizar los valores de las distintas pruebas diagnósticas en función de los síntomas que los pacientes alérgicos presentaban durante las reacciones adversas, se objetivó una clara tendencia de valores más altos tanto de IgE a extracto completo como a los moleculares en aquellos cuadros que incluían síntomas respiratorios ($p=0,013$, $p=0,04$ y $p=0,021$, respectivamente). Esto puede deberse a que todos ellos eran cuadros de anafilaxia grave lo que induce a pensar en una mayor sensibilización. Además, se encontraron diferencias estadísticamente significativas también en las medianas de la IgE a extracto completo y a Ani s 1 en los cuadros de anafilaxia ($p=0,004$ y $p=0,005$, respectivamente).

Como ya hemos descrito previamente, la sensibilización al Ani s 1 parece tener más concordancia con el desarrollo de síntomas alérgicos que al Ani s 7 (Aalberse, 2000; Moneo et al., 2000; Radauer et al., 2008), lo que se confirma con los datos obtenidos en este estudio al relacionarse el primero de ellos con cuadros de mayor gravedad. Además, al analizar la correlación con otros alérgenos implicados en el desarrollo de reactividad cruzada o la antigüedad de la reacción, no parecen tener relevancia en su detección (Anadón et al. 2011; Levin et al, 2017).

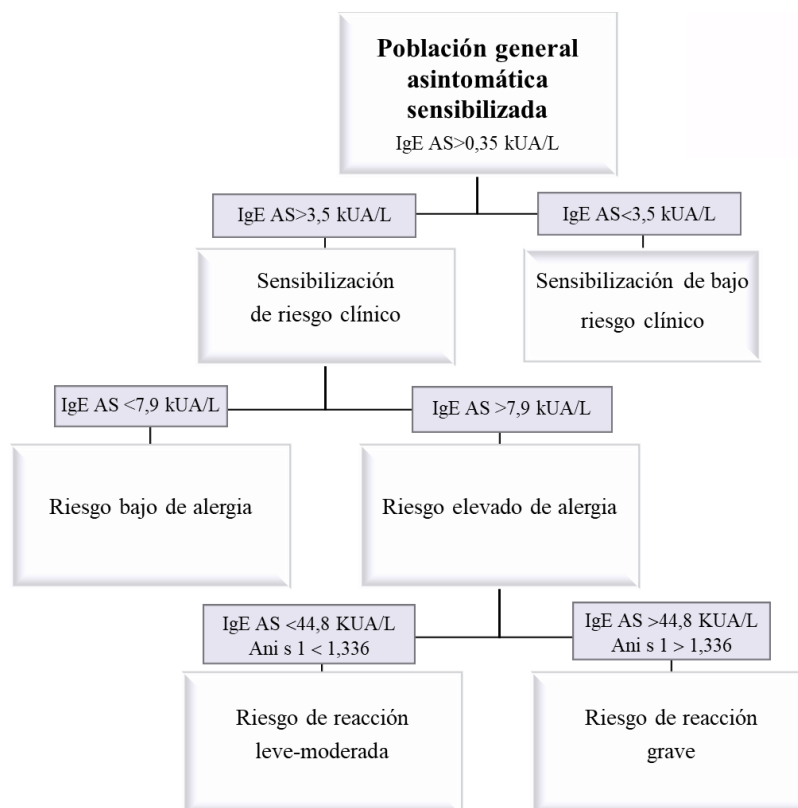
Por todo ello, con el objetivo de valorar posibles indicadores de gravedad, se determinó una curva COR con la IgE a extracto completo y a Ani s 1, empleando como patrón de referencia el haber sufrido una reacción adversa grave. Se obtuvieron AUC de 0,743 y 0,733 respectivamente, confirmando su utilidad ($p=0,001$ y $p=0,0019$, respectivamente) y sin demostrar diferencias estadísticamente significativas entre ambas determinaciones

($p=0,090$). Al calcular el índice de Youden, los puntos de corte óptimo aumentaban a $>44,8$ kUA/L y una OD $>1,336$, respectivamente, incrementándose su significancia clínica con una razón de verosimilitud del 3,33-0,42 y del 2,47-0,31, respectivamente.

Así, se proponen ambos valores como punto de corte para identificar un posible riesgo de reacción grave una vez el diagnóstico de alergia al *Anisakis simplex* está confirmado.

Determinar si es más preciso emplear la determinación de IgE específica a extracto completo (mejor rentabilidad diagnóstica al comparar las pruebas *in vitro*) o al Ani s 1 (que ha demostrado menor influencia en sus valores del tiempo transcurrido entre la reacción y su determinación; así como de las IgE específicas a otros alérgenos), requerirá estudios posteriores analizando su aplicabilidad y rentabilidad como biomarcadores de gravedad.

Figura 14. Propuesta de algoritmo pronóstico en el desarrollo de alergia al *Anisakis simplex* en la población general asintomática sensibilizada



8.11 SENSIBILIZACIÓN AL *ANISAKIS SIMPLEX* EN DISPEPSIA CRÓNICA: PAPEL DEL Ani s 7

En el grupo de pacientes con dispepsia, ninguno de ellos inicialmente presentaba sospecha de alergia al *Anisakis simplex*. Sin embargo, se determinó una seroprevalencia de IgE frente a extracto completo del parásito del 57,14% y una positividad de la prueba cutánea en el 50% de ellos, muy superior a series previamente descritas en pacientes de similares características (Bruschi et al., 2018). Este hecho es justificable por la elevada frecuencia de consumo de pescado fresco, objetivado en todos los individuos incluidos en este estudio, sin ser una excepción los pacientes del grupo de dispepsia.

Respecto a la positividad para la IgE frente al alérgeno recombinante Ani s 1 (15,38%), los valores fueron similares a los hallazgos encontrados en estudios anteriores en los que se detectaba entre un 13,8%-16,5% de seroprevalencia en pacientes con dispepsia (Toro et al., 2004, 2006).

La sensibilización al Ani s 7 no había sido previamente analizada en este tipo de patología. En nuestra muestra, se objetivó una elevada prevalencia de positividades (46,15%), datos acordes con la inmunodominancia que se le atribuyen a dicho alérgeno (Anadón et al., 2010, 2009; Rodríguez et al., 2008).

Al compararse los valores medios de las pruebas diagnósticas entre el grupo con dispepsia y los pacientes alérgicos, hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambos, tanto en los resultados de la prueba cutánea como en las determinaciones de IgE específicas. Sin embargo, éstas no se observaron al comparar el grupo de dispepsia con los sensibilizados asintomáticos. Estos resultados podrían ser debidos a una respuesta de hipersensibilidad más intensa cuando se desarrollan cuadros alérgicos respecto a la originada por los contactos con exclusiva afectación local digestiva (dispepsia), que

podría registrar valores similares a la sensibilización asintomática pero que en este caso, sí generaría síntomas gastrointestinales.

Además, se objetivó una tendencia de valores más altos de IgE específica frente al *Anisakis simplex* y/o su alérgeno mayoritario Ani s 7, en aquellas dispepsias no justificadas por lesiones de la mucosa o infección por *Helicobacter Pylori* especialmente en el caso de la IgE frente a Ani s 7, con un resultado próximo a la significación estadística ($p=0,089$).

Esto induce a pensar que es probable que la sensibilización a este parásito esté detrás del origen de casos dispepsia, fundamentalmente en poblaciones con alto consumo de pescado, pudiendo atribuirse a la sensibilización frente a un alérgeno concreto del *Anisakis simplex*, el Ani s 7.

Sin embargo, más estudios son necesarios para valorar su relevancia real a través del análisis de grupos muestrales más amplios.

8.12 LIMITACIONES DE ESTUDIO

Al escoger como muestra de población representativa de Cantabria una cohorte aleatoria de donantes de sangre, existen limitaciones a la hora de valorar el poder diagnóstico de la determinación de IgE específica a extracto completo en las diferentes patologías en las que se autclasificaban los donantes (sintomáticos/alérgicos, con urticaria crónica o dispepsia). De hecho, el número de donantes con urticaria o dispepsia dista mucho de la prevalencia previamente descrita en nuestra Comunidad Autónoma (Ojeda et al., 2018), por lo que no se pueden extraer conclusiones en cuanto a la prevalencia de sensibilización al parásito en dichas patologías. Tampoco establecer sus valores de sensibilidad y especificidad ya que todos los pacientes incluidos en el grupo de los alérgicos presentaban, como criterio de inclusión, unos valores de IgE frente a extracto completo $>0,35$ kUA/L.

Al haberse realizado solo la determinación de los alérgenos recombinantes Ani s 1 y Ani s 7 mediante el Trisakis-170 a los sueros de donantes con IgE específica a extracto completo (ImmunoCAP) positiva ($> 0,35$ kUA/l), no es posible establecer la seroprevalencia a los componentes moleculares del *Anisakis simplex* incluidos en el estudio.

Más estudios son necesarios para evaluar si los cambios en el punto de corte de las determinaciones analíticas se podrían aplicar en otras poblaciones. La alergia es una patología con gran influencia geográfica en la que es crucial la exposición que se tenga al alérgeno.

Así mismo, los puntos de corte sugeridos para la IgE a extracto completo y al alérgeno recombinante Ani s 1 como biomarcadores de gravedad, habría que valorarlos en estudios prospectivos para confirmar su aplicabilidad y valor clínico en el diagnóstico de la alergia al *Anisakis simplex*.

En cuanto a los resultados obtenidos en el grupo de pacientes con dispepsia, debido al limitado número muestral, éstos se consideran exploratorios. De tal forma, más estudios son necesarios para poder concluir que el Ani s 7 puede ser un biomarcador relevante en el estudio de la dispepsia, especialmente en aquellos casos en los que el paciente presente una gastroscopia normal y se haya descartado infección por *Helicobacter pylori*.

9. CONCLUSIONES

9. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de sensibilización al *Anisakis simplex* en Cantabria es del 12,65%, similar a la del resto de España.
2. La prueba *in vitro* con mayor precisión para el diagnóstico de alergia al *Anisakis simplex* es la IgE específica frente a extracto completo cuando se compara con la IgE específica frente a Ani s 1 y Ani s 7.
3. Todas las pruebas *in vitro* analizadas son capaces de distinguir entre alergia y sensibilización asintomática al *Anisakis simplex*, no así la prueba cutánea.
4. Entre los alérgenos moleculares estudiados, el Ani s 1 es el que presenta una mejor correlación con el desarrollo de síntomas alérgicos graves frente al parásito y mantiene unos valores más estables a lo largo del tiempo tras la reacción alérgica.
5. El valor de IgE específica frente a extracto completo de 3,5 kUA/L es útil como punto de corte para la detección de sensibilización a *Anisakis simplex* con repercusión clínica.
6. Para la confirmación diagnóstico de alergia al *Anisakis simplex* en pacientes con clínica sugestiva, el punto de corte óptimo para la IgE específica a extracto completo se corresponde con 7,9 kUA/L.
7. El punto de corte óptimo de IgE específica frente a Ani s 1 y Ani 7 para el diagnóstico de pacientes alérgicos se sitúan en $OD > 1,464$ y $OD > 0,589$, respectivamente.
8. Valores de IgE específica frente a extracto completo $>44,8$ kUA/L y frente a Ani s 1 $>1,336$ (OD) identifican pacientes que han sufrido reacciones alérgicas graves por *Anisakis simplex*.
9. En nuestra población, el género femenino es un factor asociado al desarrollo de sensibilización sintomática (alergia) al *Anisakis simplex*.

10. La ingesta frecuente de pescado fresco y el hábito de su consumo escasamente cocinado son factores relacionados con el desarrollo de sensibilización al *Anisakis simplex*.
11. La presentación clínica más frecuente de alergia al *Anisakis simplex* en nuestro medio es la anisakiasis gastroalérgica grave.
12. Los datos obtenidos de nuestra muestra de pacientes con dispepsia sugieren que debe considerarse la sensibilización al *Anisakis simplex* como factor etiológico, a través de la detección de IgE frente a Ani s 7, en aquellos en los que se descartan lesiones en mucosa gástrica e infección por *Helicobacter pylori*,

10. BIBLIOGRAFÍA

10. BIBLIOGRAFÍA

- AAITO-IFIACI Anisakis Consortium. (2011). Anisakis hypersensitivity in Italy: prevalence and clinical features: a multicenter study. *Allergy*, *66*(12), 1563–1569. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2011.02691.x>
- Abe, N., & Teramoto, I. (2014). Oral inoculation of live or dead third-stage larvae of *Anisakis simplex* in rats suggests that only live larvae induce production of antibody specific to *A. simplex*. *Acta Parasitologica*, *59*(1), 184–188. <https://doi.org/10.2478/s11686-014-0216-4>
- Abollo, E., Gestal, C., & Pascual, S. (2001). Anisakis infestation in marine fish and cephalopods from Galician waters: An updated perspective. *Parasitology Research*, *87*(6), 492–499. <https://doi.org/10.1007/s004360100389>
- Adroher, F. J., Valero, A., Ruiz-Valero, J., & Iglesias, L. (1996). Larval anisakids (Nematoda: Ascaridoidea) in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) from the fish market in Granada, Spain. *Parasitology Research*, *82*. <https://doi.org/10.1007/s004360050120>
- AESAN. (2016). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) en relación a la alergia a *Anisakis*. *Revista Del Comité Científico de La AESAN*, *24*, 23–33. Retrieved from http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/informes_comite/ALERGIA_ANISAKIS.pdf
- Alonso-Gómez, A., Moreno-Ancillo, A., López-Serrano, M. C., Suarez-de-Parga, J. M., Daschner, A., Caballero, M. T., ... Cabañas, R. (2004). *Anisakis simplex* only provokes allergic symptoms when the worm parasitises the gastrointestinal tract. *Parasitology Research*, *93*(5), 378-384. <https://doi.org/10.1007/s00436-004-1085-9>
- Alonso, M. A. T., García, M. V. M., Hernández, J. E., Moro, M. M., Ezquerra, P. E. R. P., Ingelmo, A. R., & Albelda, C. V. (2013). Recurrence of anaphylaxis in a

- Spanish series. *Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology*, 23(6), 383–391.
- Anadón, A. M., Rodríguez, E., Gárate, M. T., Cuéllar, C., Romarís, F., Chivato, T., ... Ubeira, F. M. (2010). Diagnosing human anisakiasis: Recombinant Ani s 1 and Ani s 7 allergens versus the UniCAP 100 fluorescence enzyme immunoassay. *Clinical and Vaccine Immunology*, 17(4), 496–502. <https://doi.org/10.1128/CVI.00443-09>
 - Anadón, A. M., Romarís, F., Escalante, M., Rodríguez, E., Gárate, T., Cuéllar, C., & Ubeira, F. M. (2009). The Anisakis simplex Ani s 7 major allergen as an indicator of true Anisakis infections. *Clinical and Experimental Immunology*, 156(3), 471–478. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2009.03919.x>
 - Añíbarro, B., & Seoane, F. J. (1998). Occupational conjunctivitis caused by sensitization to Anisakis simplex. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 102(2), 331–332. [https://doi.org/10.1016/S0091-6749\(98\)70108-3](https://doi.org/10.1016/S0091-6749(98)70108-3)
 - Armentia, A., Lombardero, M., Callejo, A., Martín Santos, J. M., Gil, F. J. M., Vega, J., ... Martínez, C. (1998). Occupational asthma by Anisakis simplex. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 102(5), 831–834. [https://doi.org/10.1016/S0091-6749\(98\)70024-7](https://doi.org/10.1016/S0091-6749(98)70024-7)
 - Asturias, J. A., Eraso, E., & Martinez, A. (2000). Cloning and high level expression in Escherichia coli of an Anisakis simplex tropomyosin isoform. *Molecular and biochemical parasitology*, 108(2), 263–267. [https://doi.org/10.1016/S0166-6851\(00\)00218-8](https://doi.org/10.1016/S0166-6851(00)00218-8)
 - Asturias, J. A., Eraso, E., Moneo, I., & Martinez, A. (2000). Is tropomyosin an allergen in Anisakis? Hypereosinophilic syndrome presenting as acute myocardial infarction. *Allergy*, 55(9), 898–899. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2000.00734.x>
 - Audicana, M. Teresa, & Kennedy, M. W. (2008). Anisakis simplex: From obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(2), 360–379. <https://doi.org/10.1128/CMR.00012-07>

- Audicana, M. T., Ansotegui, I. J., de Corres, L. F., & Kennedy, M. W. (2002). Anisakis simplex: dangerous—dead and alive?. *Trends in parasitology*, *18*(1), 20-25. [https://doi.org/10.1016/S1471-4922\(01\)02152-3](https://doi.org/10.1016/S1471-4922(01)02152-3)
- Baeza, M. L., Conejero, L., Higaki, Y., Martín, E., Pérez, C., Infante, S., ... Zubeldia, J. M. (2005). Anisakis simplex allergy: a murine model of anaphylaxis induced by parasitic proteins displays a mixed Th1/Th2 pattern. *Clinical & Experimental Immunology*, *142*(3), 433–440. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2005.02952.x>
- Baeza, M. L., Rodríguez, A., Matheu, V., Rubio, M., Tornero, P., De Barrio, M., ... & Zubeldia, J. M. (2004). Characterization of allergens secreted by Anisakis simplex parasite: clinical relevance in comparison with somatic allergens. *Clinical & experimental allergy*, *34*(2), 296-302. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2004.01883.x>
- Baeza, M. L., Zubeldia, J. M., & Rubio, M. (2001). Anisakis simplex allergy. *Allergy and Clinical Immunology International*, *13*(6), 242–249. <https://doi.org/10.1027/0838-1925.13.6.242>
- Bao, M., Pierce, G. J., Pascual, S., González-Muñoz, M., Mattiucci, S., Mladineo, I., ... & Strachan, N. J. (2017). Assessing the risk of an emerging zoonosis of worldwide concern: anisakiasis. *Scientific reports*, *7*(1), 1-17. <http://dx.doi.org/10.1038/srep43699>
- Baptista-Fernandes, T., Rodrigues, M., Castro, I., Paixão, P., Pinto-Marques, P., Roque, L., ... Toscano, C. (2017). Human gastric hyperinfection by Anisakis simplex: A severe and unusual presentation and a brief review. *International Journal of Infectious Diseases*, *64*, 38–41. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2017.08.012>
- Barber, D., De La Torre, F., Lombardero, M., Antepará, I., Colas, C., Dávila, I., ... & Rodríguez, R. (2009). Component-resolved diagnosis of pollen allergy based on skin testing with profilin, polcalcin and lipid transfer protein pan-allergens. *Clinical & Experimental Allergy*, *39*(11), 1764-1773. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2009.03351.x>

- Bernardini, R., Mistrello, G., Novembre, E., Roncarolo, D., Zanotta, S., Lombardi, E., ... Vierucci, A. (2005). Cross-Reactivity between IgE-Binding Proteins from *Anisakis Simplex* and *Dermatophagoides Pteronyssinus*. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 18(4), 671–675. <https://doi.org/10.1177/039463200501800408>
- Brown, S. G. A. (2004). Clinical features and severity grading of anaphylaxis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 114(2), 371–376. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.04.029>
- Brusca, I., Graci, S., Barrale, M., Cammilleri, G., Zarcone, M., Onida, R., ... Mazzucco, W. (2020). Use of a comprehensive diagnostic algorithm for *Anisakis* allergy in a high seroprevalence Mediterranean setting. *European Annals of Allergy and Clinical Immunology*, 52(3), 131–141. <https://doi.org/10.23822/eurannaci.1764-1489.118>
- Bruschi, F., Castagna, B., Mori-Ubaldini, F., Pinto, B., Costa, F., & Bonino, F. (2018). Low *Anisakis*-specific IgE prevalence in dyspeptic patients in Italy—a retrospective study. *The EuroBiotech Journal*, 2(1), 59-63.
- Caballero, M. L., & Moneo, I. (2002). Specific IgE determination to Ani s 1, a major allergen from *Anisakis simplex*, is a useful tool for diagnosis. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 89(1), 74-77. [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)61914-X](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)61914-X)
- Caballero, M. L., Umpierrez, A., Moneo, I., & Rodriguez-Perez, R. (2011). Ani s 10, a new *Anisakis simplex* allergen: cloning and heterologous expression. *Parasitology international*, 60(2), 209-212.. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2011.01.003>
- Caballero, Mara Luisa, Umpierrez, A., Perez-Piñar, T., Moneo, I., De Burgos, C., Asturias, J. A., & Rodríguez-Pérez, R. (2012). *Anisakis simplex* recombinant allergens increase diagnosis specificity preserving high sensitivity. *International Archives of Allergy and Immunology*, 158(3), 232–240. <https://doi.org/10.1159/000331581>

- Carballeda-Sangiao, N., Rodríguez-Mahillo, A. I., Puente, S., Gutiérrez, M. T., Moneo, I., & González-Muñoz, M. (2014). Anisakis/Ascaris IgE ratio improves specificity for the diagnosis of Anisakis simplex sensitization in travellers and immigrants. *Acta Tropica*, *138*, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.05.020>
- Carretero Aníbarro, P., Blanco Carmona, J., García Gonzalez, F., Marcos Durantez, M., Alonso Gil, L., Garcés Sotillos, M., ... Gutierrez Ortega, M. C. (1997). Protein contact dermatitis caused by Anisakis simplex. *Contact Dermatitis*, *37*(5), 247. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1997.tb02453.x>
- Chung, Y. B., & Lee, J. (2014). Clinical characteristics of gastroallergic anisakiasis and diagnostic implications of immunologic tests. *Allergy, Asthma and Immunology Research*, *6*(3), 228–233. <https://doi.org/10.4168/aaair.2014.6.3.228>
- Cooper, P. J. (2009). UKPMC Funders Group Interactions between helminth parasites and allergy. *Allergy*, *9*(1), 29–37. <https://doi.org/10.1097/ACI.0b013e32831f44a6.Interactions>
- Cruz, C., Barbosa, C., & Saraiva, A. (2007). Distribution of larval anisakids in blue whiting off Portuguese fish market. *Helminthologia*, *44*(1), 21–24. <https://doi.org/10.2478/s11687-006-0051-8>
- Cuéllar, C., Daschner, A., Valls, A., De Frutos, C., Fernández-Fígares, V., Anadón, A. M., ... Ubeira, F. M. (2012). Ani s 1 and Ani s 7 recombinant allergens are able to differentiate distinct Anisakis simplex-associated allergic clinical disorders. *Archives of Dermatological Research*, *304*(4), 283–288. <https://doi.org/10.1007/s00403-012-1206-8>
- Cuéllar, Carmen, Valls, A., de Frutos, C., Rodero, M., & Daschner, A. (2013). Avidity Studies in Anisakis simplex -Associated Allergic Diseases. *Journal of Allergy*, *2013*, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2013/106781>
- Daschner, A., Fernández-Fígares, V., Rodero, M., Valls, A., De Frutos, C., Ubeira, F. M., & Cuéllar, C. (2014). Specific IgG₄ : Possible Role in the Pathogenesis and a New Marker in the Diagnosis of *Anisakis* -associated Allergic Disease.

- Scandinavian Journal of Immunology*, 79(2), 120–126.
<https://doi.org/10.1111/sji.12129>
- Daschner, Á., Fernández-Fígares, V., Valls, a., de Frutos, C., Rodero, M., Ubeira, F. M., & Cuéllar, C. (2013). Different fish-eating habits and cytokine production in chronic urticaria with and without sensitization against the fish-parasite *Anisakis simplex*. *Allergology International*, 62(2), 191–201.
<https://doi.org/10.2332/allergolint.12-OA-0504>
 - Daschner, Alvaro, Cuéllar, C., & Rodero, M. (2012). The *Anisakis* allergy debate: does an evolutionary approach help? *Trends in Parasitology*, 28(1), 9–15.
<https://doi.org/10.1016/j.pt.2011.10.001>
 - Daschner, Alvaro, De Frutos, C., Valls, A., & Vega, F. (2010). *Anisakis simplex* sensitization-associated urticaria: Short-lived immediate type or prolonged acute urticaria. *Archives of Dermatological Research*, 302(8), 625–629.
<https://doi.org/10.1007/s00403-010-1069-9>
 - Debenedetti, Á. L., Madrid, E., Trelis, M., Codes, F. J., Gil-Gómez, F., Sáez-Durán, S., & Fuentes, M. V. (2019). Prevalence and risk of anisakid larvae in fresh fish frequently consumed in Spain: An overview. *Fishes*, 4(1), 1–16.
<https://doi.org/10.3390/fishes4010013>
 - De Corres, L. F., Del Pozo, M., Aizpuru, F., & Buendía, E. (2001). 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*. *Alergología e Inmunología Clínica*, 16, 337-346.
 - Del Pozo, V., Arrieta, I., Tuñón, T., Cortegano, I., Gomez, B., Cárdbaba, B., ... Lahoz, C. (1999). Immunopathogenesis of human gastrointestinal infection by *Anisakis simplex*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 104(3), 637–643.
[https://doi.org/10.1016/S0091-6749\(99\)70336-2](https://doi.org/10.1016/S0091-6749(99)70336-2)
 - Del Rey-Moreno, A., Valero-López, A., Gómez-Pozo, B., Mayorga-Mayorga, C., Hernández-Quero, J., Garrido-Torres-Puchol, M. L., ... Lozano-Maldonado, J. (2008). Utilidad de la anamnesis y de las técnicas inmunológicas en el diagnóstico

- de la anisakidosis en pacientes con abdomen agudo. *Revista Espanola de Enfermedades Digestivas*, 100(3), 146–152. <https://doi.org/10.4321/s1130-01082008000300004>
- Del Rey Moreno, A., Valero, A., Mayorga, C., Gómez, B., Torres, M. J., Hernández, J., ... Lozano Maldonado, J. (2006). Sensitization to *Anisakis simplex* s.l. in a healthy population. *Acta Tropica* 97(3), 265-269. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2005.11.007>
 - DeLong, E. R., DeLong, D. M., & Clarke-Pearson, D. L. (1988). Comparing the Areas under Two or More Correlated Receiver Operating Characteristic Curves: A Nonparametric Approach. *Biometrics*, 44(3), 837–845. <https://doi.org/10.2307/2531595>
 - Dupouy-Camet, J. (2014). Helminth infections and their impact on global public health (pp. 229-279). F. Bruschi (Ed.). Wien, Austria:: Springer.
 - Ewan, P. W., & Coote, D. (1990). Evaluation of a capsulated hydrophilic carrier polymer (the ImmunoCAP) for measurement of specific IgE antibodies. *Allergy*, 45(1), 22–29. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1990.tb01080.x>
 - Fæste, C. K., Jonscher, K. R., Dooper, M. M. W. B., Egge-Jacobsen, W., Moen, A., Daschner, A., ... Christians, U. (2014). Characterisation of potential novel allergens in the fish parasite *Anisakis simplex*. *EuPA Open Proteomics*, 4, 140–155. <https://doi.org/10.1016/j.euprot.2014.06.006>
 - Food and Agriculture Organization of the United Nations, & World Health Organization. (2014). *Multicriteria-Based Ranking for Risk Management of Food-Borne Parasites. Microbiological Risk Assessment Series (MRA) 23*. Retrieved from <http://www.fao.org/publications/card/en/c/ee07c6ae-b86c-4d5f-915c-94c93ded7d9e/>
 - Gamboa, P. M., Asturias, J., Martínez, R., Antépara, I., Jáuregui, I., Urrutia, I., ... Sanz, M. L. (2012). Diagnostic utility of components in allergy to *Anisakis simplex*. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 22(1), 13–19.

- Garcia-Perez, J. C., Rodríguez-Perez, R., Ballesteros, A., Zuloaga, J., Fernandez-Punero, B., Arias-Díaz, J., & Caballero, M. L. (2015). Previous Exposure to the Fish Parasite *Anisakis* as a Potential Risk Factor for Gastric or Colon Adenocarcinoma. *Medicine*, 94(40), e1699–e1699. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000001699>
- González-Fernández, J., Daschner, A., Nieuwenhuizen, N. E., Lopata, A. L., Frutos, C. De, Valls, A., & Cuéllar, C. (2015). Haemoglobin, a new major allergen of *Anisakis simplex*. *International Journal for Parasitology*, 45(6), 399–407. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.01.002>
- González-Fernández, J., Rivas, L., Luque-Ortega, J. R., Núñez-Ramírez, R., Campioli, P., Gárate, T., ... Cuéllar, C. (2017). Recombinant vs native *Anisakis* haemoglobin (Ani s 13): Its appraisal as a new gold standard for the diagnosis of allergy. *Experimental Parasitology*, 181, 119–129. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2017.08.010>
- Grabda J. (1976). Studies on the cycle and morphogenesis of *Anisakis simplex* (Rudolphi, 1809) (Nematoda:Anisakidae) culture in vitro. *Acta Ichthyol Piscat*, 6, 119–141.
- Guarneri, F., Guarneri, C., & Benvenga, S. (2007). Cross-reactivity of *Anisakis simplex*: possible role of Ani s 2 and Ani s 3. *Int J Dermatol*, 46.
- Herrador, Z., Daschner, Á., Perteguer, M. J., & Benito, A. (2019). Epidemiological scenario of anisakidosis in Spain based on associated hospitalizations: The tip of the iceberg. *Clinical Infectious Diseases*, 69(1), 69–76. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy853>
- Hochberg, N. S., & Hamer, D. H. (2010). Anisakidosis: Perils of the deep. *Clinical Infectious Diseases*, 51, 806–812. <https://doi.org/10.1086/656238>
- Hopkin, J. (2009). Immune and genetic aspects of asthma, allergy and parasitic worm infections: Evolutionary links. *Parasite Immunology*, 31(5), 267–273. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2009.01104.x>

- Iglesias, R., Leiro, J., Ubeiro, F. M., Santamarina, M. T., Navarrete, I., & Sanmartin, M. L. (1996). Antigenic cross-reactivity in mice between third-stage larvae of *Anisakis simplex* and other nematodes. *Parasitology research*, 82(4), 378-381. <https://doi.org/10.1007/s004360050131>
- INSERM. (2015). Prevalence and incidence of rare diseases : Bibilographic data. Orphanet Report Series: Rare Diseases Collection, (1), 1–55. Retrieved from www.orpha.net/orphacom/cahiers/docs/GB/Prevalence_of_rare_diseases_by_alphabetical_list.pdf
- Ishii, Y., Fujino, T., & Weerasooriya, M. V. (1989). Morphology of Anisakine Larvae BT - Gastric Anisakiasis in Japan: Epidemiology, Diagnosis, Treatment (Hajime Ishikura & M. Namiki, eds.). https://doi.org/10.1007/978-4-431-68290-5_4
- Ishikura, H, Kikuchi, K., Nagasawa, K., Ooiwa, T., Takamiya, H., Sato, N., & Sugane, K. (1993). *Anisakidae and anisakidosis* (T. Sun, Ed.). https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2732-8_3
- Ito, Y., Ikematsu, Y., Yuzawa, H., Nishiwaki, Y., Kida, H., Waki, S., ... Kanematsu, T. (2007). Chronic gastric anisakiasis presenting as pneumoperitoneum. *Asian Journal of Surgery*, 30(1), 67–71. [https://doi.org/10.1016/S1015-9584\(09\)60131-7](https://doi.org/10.1016/S1015-9584(09)60131-7)
- Jerončić, A., Nonković, D., Vrbatović, A., Hrabar, J., Bušelić, I., Martínez-Sernández, V., ... Mladineo, I. (2020). *Anisakis* Sensitization in the Croatian fish processing workers: Behavioral instead of occupational risk factors? *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 14(1), e0008038. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008038>
- Johansson, E., Aponno, M., Lundberg, M., & Van Hage-Hamsten, M. (2001). Allergenic cross-reactivity between the nematode *Anisakis simplex* and the dust mites *Acarus siro*, *Lepidoglyphus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae*, and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Allergy*, 56(7), 660–666. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2001.00798.x>

- Kang, D. B., Park, W. C., & Lee, J. K. (2014). Chronic gastric anisakiasis provoking a bleeding gastric ulcer. *Annals of Surgical Treatment and Research*, 86(5), 270–273. <https://doi.org/10.4174/astr.2014.86.5.270>
- Kaplan, A. P. (2004). Chronic urticaria: Pathogenesis and treatment. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 114(3), 465–474. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.02.049>
- Kassai, T., Cordero Del Campillo, M., Euzeby, J., Gaafar, S., Hiepe, T., & Himonas, C. A. (1988). Standardized nomenclature of animal parasitic diseases (SNOAPAD). *Veterinary Parasitology*, 29(4), 299–326. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(88\)90148-3](https://doi.org/10.1016/0304-4017(88)90148-3)
- Kim, S. H., Park, C. W., Kim, S. K., Won, S., Park, W. K., Kim, H. R., ... Lee, G. S. (2013). A case of anisakiasis invading the stomach and the colon at the same time after eating anchovies. *Clinical Endoscopy*, 46(3), 293–296. <https://doi.org/10.5946/ce.2013.46.3.293>
- Kobayashi, Y., Ishizaki, S., Shimakura, K., Nagashima, Y., & Shiomi, K. (2007). Molecular cloning and expression of two new allergens from *Anisakis simplex*. *Parasitology research*, 100(6), 1233-1241. <https://doi.org/10.1007/s00436-006-0396-4>
- Kobayashi, Y., Kakemoto, S., Shimakura, K., & Shiomi, K. (2015). Molecular cloning and expression of a new major allergen, Ani s 14, from *Anisakis simplex*. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, 56(5), 194-9. <https://doi.org/10.3358/shokueishi.56.194>
- Kobayashi, Y., Ohsaki, K., Ikeda, K., Kakemoto, S., Ishizaki, S., Shimakura, K., ... & Shiomi, K. (2011). Identification of novel three allergens from *Anisakis simplex* by chemiluminescent immunoscreening of an expression cDNA library. *Parasitology international*, 60(2), 144-150. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2011.01.004>
- Kobayashi, Y., Shimakura, K., Ishizaki, S., Nagashima, Y., & Shiomi, K. (2007). Purification and cDNA cloning of a new heat-stable allergen from *Anisakis*

- simplex. *Molecular and biochemical parasitology*, 155(2), 138-145. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2007.06.012>
- Kochanowski, M., González-Muñoz, M., Gómez-Morales, M. Á., Gottstein, B., Dąbrowska, J., Różycki, M., ... Boubaker, G. (2019). Comparative analysis of excretory-secretory antigens of *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova decipiens* and *Contracaecum osculatum* regarding their applicability for specific serodiagnosis of human anisakidosis based on IgG-ELISA. *Experimental Parasitology*, 197, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2018.12.004>
 - Køie, M., Berland, B., & Burt, M. D. B. (1995). Development to third-stage larvae occurs in the eggs of *Anisakis simplex* and *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52(S1), 134–139. <https://doi.org/10.1139/f95-519>
 - Kojima, G., Usuki, S., Mizokami, K., Tanabe, M., & Machi, J. (2013). Intestinal anisakiasis as a rare cause of small bowel obstruction. *American Journal of Emergency Medicine*, 31(9), 1422.e1-1422.e2. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2013.05.015>
 - Lin, A. H., Nepstad, I., Florvaag, E., Egaas, E., & Van Do, T. (2014). An extended study of seroprevalence of anti-anisakis simplex IgE antibodies in norwegian blood donors. *Scandinavian Journal of Immunology*, 79(1), 61–67. <https://doi.org/10.1111/sji.12130>
 - Llorens, C., Arcos, S. C., Robertson, L., Ramos, R., Futami, R., Soriano, B., ... Navas, A. (2018). Functional insights into the infective larval stage of *Anisakis simplex* s.s., *Anisakis pegreffii* and their hybrids based on gene expression patterns. *BMC Genomics*, 19(1), 1–21. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4970-9>
 - López-Serrano, M. C., Gomez, A. A., Daschner, A., Moreno-Ancillo, A., De Parga, J. M. S., Caballero, M. T., ... & Cabañas, R. (2000). Gastroallergic anisakiasis: findings in 22 patients. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 15(5), 503-506. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1746.2000.02153.x>

- Lorenzo, S., Iglesias, R., Leiro, J., Ubeira, F. M., Ansotegui, I., García, M., & Fernández de Corres, L. (2000). Usefulness of currently available methods for the diagnosis of *Anisakis simplex* allergy. *Allergy*, *55*(7), 627–633. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10921461>
- M. Garcia Alonso, M. L. Caballero, A. Umpierrez, M. Lluch-Bernal, T. Knaute, & R. Rodríguez-Pérez. (2015). Relationships between T cell and IgE/IgG4 epitopes of the *Anisakis simplex* major allergen Ani s 1. *Clinical & Experimental Allergy*, *45* (5), 994–1005.
- Martínez-Aranguren, R. M., Gamboa, P. M., García-Lirio, E., Asturias, J., Goikoetxea, M. J., & Larruga, M. L. S. (2014). In vivo and in vitro testing with rAni s 1 can facilitate diagnosis of *Anisakis simplex* allergy. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, *24*(6), 431–438.
- Mattiucci, S., Cipriani, P., Paoletti, M., Levsen, A., & Nascetti, G. (2017). Reviewing biodiversity and epidemiological aspects of anisakid nematodes from the North-east Atlantic Ocean. *Journal of Helminthology*, *91*(4), 422–439. <https://doi.org/10.1017/S0022149X1700027X>
- Mattiucci, S., Farina, V., Campbell, N., MacKenzie, K., Ramos, P., Pinto, A. L., ... Nascetti, G. (2008). *Anisakis* spp. larvae (Nematoda: Anisakidae) from Atlantic horse mackerel: Their genetic identification and use as biological tags for host stock characterization. *Fisheries Research*, *89*(2), 146–151. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2007.09.032>
- Mattiucci, S., Nascetti, G., Clanchi, R., Paggi, L., Arduino, P., Margolis, L., ... & Bullini, L. (1997). Genetic and ecological data on the *Anisakis simplex* complex, with evidence for a new species (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae). *The Journal of parasitology*, *83*(3), 401-416. <https://doi.org/10.2307/3284402>
- Mazzucco, W., Lacca, G., Cusimano, R., Provenzani, A., Costa, A., Di Noto, A. M., ... Vitale, F. (2012). Prevalence of sensitization to *Anisakis simplex* among professionally exposed populations in Sicily. *Archives of Environmental & Occupational Health*, *67*(2), 91–97. <https://doi.org/10.1080/19338244.2011.578683>

- Mazzuco, W., Raia, D. D., Marotta, C., Costa, A., Ferrantelli, V., Vitale, F., & Casuccio, A. (2018). Anisakis sensitization in different population groups and public health impact: A systematic review. *PLOS ONE*, *13*(9), e0203671. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203671>
- Gisbert JP, Calvet X, Ferrándiz J, Mascort J, Alonso-Coello P & Marzo M. (2012). Manejo del paciente con dispepsia. Guía de práctica clínica. Actualización 2012. *Gastroenterología y Hepatología*, *35*(10):725.e1-38. Spanish. doi: 10.1016/j.gastrohep.2012.05.002. PMID: 23186826.
- Mladineo, I., Poljak, V., Martínez-Sernández, V., & Ubeira, F. M. (2014). Anti-Anisakis IgE Seroprevalence in the Healthy Croatian Coastal Population and Associated Risk Factors. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *8*(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002673>
- Mo, T. A., Gahr, A., Hansen, H., Hoel, E., Oaland, O., & Poppe, T. T. (2014). Presence of *Anisakis simplex* (Rudolphi, 1809 det. Krabbe, 1878) and *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) (Nematoda; Anisakidae) in runts of farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, *37*(2), 135–140. <https://doi.org/10.1111/jfd.12096>
- Moneo, I., Caballero, M. L., Gómez, F., Ortega, E., & Alonso, M. J. (2000). Isolation and characterization of a major allergen from the fish parasite *Anisakis simplex*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *106*(1), 177-182. <https://doi.org/10.1067/mai.2000.106732>
- Moneo, I., Caballero, M. L., González-Muñoz, M., Rodríguez-Mahillo, A. I., Rodríguez-Perez, R., & Silva, A. (2005). Isolation of a heat-resistant allergen from the fish parasite *Anisakis simplex*. *Parasitology research*, *96*(5), 285-289. <https://doi.org/10.1007/s00436-005-1362-2>
- Moneo, Ignacio, Carballeda-Sangiao, N., & González-Muñoz, M. (2017). New Perspectives on the Diagnosis of Allergy to *Anisakis* spp. *Current Allergy and Asthma Reports*, *17*(5), 27. <https://doi.org/10.1007/s11882-017-0698-x>

- Montalto, M., Miele, L., Marcheggiano, A., Santoro, L., Curigliano, V., Vastola, M., & Gasbarrini, G. (2005). Anisakis infestation: a case of acute abdomen mimicking Crohn's disease and eosinophilic gastroenteritis. *Digestive and liver disease*, 37(1), 62-64. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2004.05.014>
- Moreno-Ancillo, A., Caballero, M. T., Cabanas, R., Contreras, J., Martin-Barroso, J. A., Barranco, P., & López-Serrano, M. C. (1997). Allergic reactions to Anisakis simplex parasitizing seafood. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 79(3), 246-250. [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)63009-8](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)63009-8)
- Muraro, A., Lemanske, R. F. J., Castells, M., Torres, M. J., Khan, D., Simon, H.-U., ... Nadeau, K. C. (2017). Precision medicine in allergic disease-food allergy, drug allergy, and anaphylaxis-PRACTALL document of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. *Allergy*, 72(7), 1006–1021. <https://doi.org/10.1111/all.13132>
- Nagasawa, K. (1990). The Life Cycle of Anisakis simplex: A Review. In Hajime Ishikura & K. Kikuchi (Eds.), *Intestinal Anisakiasis in Japan: Infected Fish, Serological Diagnosis, and Prevention* (pp. 31–40). https://doi.org/10.1007/978-4-431-68299-8_4
- Nieuwenhuizen, N. E. (2016). Anisakis – immunology of a foodborne parasitosis. *Parasite Immunology*, 38(9), 548–557. <https://doi.org/10.1111/pim.12349>
- Nieuwenhuizen, N., Lopata, A. L., Jeebhay, M. F., Herbert, D. R., Robins, T. G., & Brombacher, F. (2006). Exposure to the fish parasite Anisakis causes allergic airway hyperreactivity and dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117(5), 1098–1105. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2005.12.1357>
- Ojeda, P., Sastre, J., Olaguibel, J. M., Chivato, T., & investigators participating in the National Survey of the Spanish Society of Allergology and Clinical Immunology Alergológica 2015. (2018). Alergológica 2015: A National Survey on Allergic Diseases in the Adult Spanish Population. *Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology*, 28(3), 151–164. <https://doi.org/10.18176/jiaci.0264>

- Panel, E., & Biohaz, H. (2010). Scientific Opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA Journal*, 8(4). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1543>
- Pérez-Pérez, J., Fernández-Caldas, E., Marañón, F., Sastre, J., Bernal, M. L., Rodríguez, J., & Bedate, C. A. (2000). Molecular cloning of paramyosin, a new allergen of *Anisakis simplex*. *International archives of allergy and immunology*, 123(2), 120-129. <https://doi.org/10.1159/000024442>
- Puente, P., Anadón, A. M., Rodero, M., Romarís, F., Ubeira, F. M., & Cuéllar, C. (2008). *Anisakis simplex*: The high prevalence in Madrid (Spain) and its relation with fish consumption. *Experimental Parasitology*, 118(2), 271–274. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.exppara.2007.07.002>
- Rello, F. J., Adroher, F. J., Benítez, R., & Valero, A. (2009). The fishing area as a possible indicator of the infection by anisakids in anchovies (*Engraulis encrasicolus*) from southwestern Europe. *International Journal of Food Microbiology*, 129(3), 277–281. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.12.009>
- Rodríguez-Mahillo, A. I., Gonzalez-Muñoz, M., Gomez-Aguado, F., Rodriguez-Perez, R., Corcuera, M. T., Caballero, M. L., & Moneo, I. (2007). Cloning and characterisation of the *Anisakis simplex* allergen Ani s 4 as a cysteine-protease inhibitor. *International journal for parasitology*, 37(8-9), 907-917. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2007.01.007>
- Rodríguez-Perez, R., Moneo, I., Rodríguez-Mahillo, A., & Caballero, M. L. (2008). Cloning and expression of Ani s 9, a new *Anisakis simplex* allergen. *Molecular and biochemical parasitology*, 159(2), 92-97. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2008.02.008>
- Rodríguez, E., Anadón, A. M., García-Bodas, E., Romarís, F., Iglesias, R., Gárate, T., & Ubeira, F. M. (2008). Novel sequences and epitopes of diagnostic value derived from the *Anisakis simplex* Ani s 7 major allergen. *Allergy*, 63. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2007.01564.x>

- Dreborg, S., & Frew, A. (1993). A Position Paper: Allergen standardization and skin tests. *Allergy*, 48(s14), 49–54. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1993.tb04756.x>
- Sánchez-Velasco, P., Mendizábal, L., Antón, E. M., Ocejo-Vinyals, G., Jerez, J., & Leyva-Cobián, F. (2000). Association of hypersensitivity to the nematode *Anisakis simplex* with HLA class II DRB1*1502-DQB1*0601 haplotype. *Human Immunology*, 61(3), 314–319. [https://doi.org/10.1016/S0198-8859\(99\)00167-6](https://doi.org/10.1016/S0198-8859(99)00167-6)
- Sastre, J., Lluch-Bernal, M., Quirce, S., Arrieta, I., Lahoz, C., Del Amo, A., ... Marañón, F. (2000). A double-blind, placebo-controlled oral challenge study with lyophilized larvae and antigen of the fish parasite, *Anisakis simplex*. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 55(6), 560–564. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2000.00422.x>
- Selmi, C., & Gershwin, M. E. (2019). Sex and autoimmunity: proposed mechanisms of disease onset and severity. *Expert Review of Clinical Immunology*, 15(6), 607–615. <https://doi.org/10.1080/1744666X.2019.1606714>
- Shafique, R. H., Inam, M., Ismail, M., & Chaudhary, F. R. (2012). Group 10 allergens (tropomyosins) from house-dust mites may cause covariation of sensitization to allergens from other invertebrates. *Allergy & Rhinology (Providence, R.I.)*, 3(2), e74–e90. <https://doi.org/10.2500/ar.2012.3.0036>
- Shibata, E., Ueda, T., Akaike, G., & Saida, Y. (2014). CT findings of gastric and intestinal anisakiasis. *Abdominal Imaging*, 39(2), 257–261. <https://doi.org/10.1007/s00261-014-0075-3>
- Shrestha, S., Kisino, A., Watanabe, M., Itsukaichi, H., Hamasuna, K., Ohno, G., & Tsugu, A. (2014). Intestinal anisakiasis treated successfully with conservative therapy: Importance of clinical diagnosis. *World Journal of Gastroenterology*, 20(2), 598–602. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i2.598>
- Šimat, V., & Trumbić, Ž. (2019). Viability of *Anisakis* spp. larvae after direct exposure to different processing media and non-thermal processing in anchovy fillets. *Fishes*, 4 (1), 19. <https://doi.org/10.3390/fishes4010019>

- Smith, J. W. (1983). *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. *Journal of Helminthology*, 57(3), 205–224. <https://doi.org/DOI:10.1017/S0022149X00009512>
- Sotelo-García, M., Calderón, M., Crespo, J., de las Vecillas, L., & Garmilla-Ezquerro, P. (2018). Ascitis secundaria a anisakiasis: la importancia de la historia clínica y las pruebas complementarias. *Revista Española de Casos Clínicos en Medicina Interna (RECCMI)*, 3, 118-121.
- Tejada, M., Olivares, F., de las Heras, C., Careche, M., Solas, M. T., García, M. L., ... González-Muñoz, M. (2015). Antigenicity of *Anisakis simplex* s.s. L3 in parasitized fish after heating conditions used in the canning processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(5), 922–927. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6763>
- Thorpe, S. J., Heath, A., Fox, B., Patel, D., & Egner, W. (2014). The 3rd International Standard for serum IgE: international collaborative study to evaluate a candidate preparation. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 52(9), 1283–1289. <https://doi.org/10.1515/cclm-2014-0243>
- Toro, C, Caballero, M. L., Baquero, M., Garcia-Samaniego, J., Casado, I., Rubio, M., & Moneo, I. (2004). High prevalence of seropositivity to a major allergen of *Anisakis simplex*, Ani s 1, in dyspeptic patients. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 11(1), 115–118. <https://doi.org/10.1128/CDLI.11.1.115>
- Toro, Carlos, Caballero, M. L., Baquero, M., García-Samaniego, J., Casado, I., Martínez, P., ... Moneo, I. (2006). Seropositivity to a major allergen of *Anisakis simplex*, Ani s 1, in dyspeptic patients with *Helicobacter pylori* infection: Histological and laboratory findings and clinical significance. *Clinical Microbiology and Infection*, 12(5), 453–458. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01376.x>

- Toyoda, H., & Tanaka, K. (2016). Intestinal Anisakiasis Treated Successfully with Prednisolone and Olopatadine Hydrochloride. *Case Reports in Gastroenterology*, *10*(1), 30–35. <https://doi.org/10.1159/000442971>
- Ubeira, F. M., Anadón, A. M., Salgado, A., Carvajal, A., Ortega, S., Aguirre, C., ... Figueiras, A. (2011). Synergism between prior Anisakis simplex infections and intake of NSAIDs, on the risk of upper digestive bleeding: A case-control study. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *5*(6), 1–6.
- Valero, A., López-Cuello, M. M., Benítez, R., & Adroher, F. (2006). Anisakis spp. in European hake, *Merluccius merluccius* (L.) from the Atlantic off north-west Africa and the Mediterranean off southern Spain. *Acta Parasitologica*, *51*(3), 209-212.
- Valiñas, B., Lorenzo, S., Eiras, A., Figueiras, A., Sanmartín, M. L., & Ubeira, F. M. (2001). Prevalence of and risk factors for IgE sensitization to Anisakis simplex in a Spanish population. *Allergy*, *56*, 667–671.
- Vericimo, M. A., Figueiredo Jr, I., Teixeira, G. A. P. B., & São Clemente, S. C. (2015). Experimental anisakid infections in mice. *Journal of helminthology*, *89*(5), 620.
- <https://doi.org/10.1017/S0022149X14000340>
- Viñas, M., Postigo, I., Suñén, E., & Martínez, J. (2020). Urticaria and silent parasitism by Ascaridoidea: Component-resolved diagnosis reinforces the significance of this association. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *14*(4), e0008177. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008177>
- Vohlonen, I., Terho, E. O., Koivikko, A., Vanto, T., Holmén, A., & Heinonen, O. P. (1989). Reproducibility of the skin prick test. *Allergy*, *44*(8), 525–531. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1989.tb04196.x>

11. ANEXOS

11. ANEXOS

11.1 APROBACIÓN COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE CANTABRIA



**COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN
CLÍNICA DE CANTABRIA**
IDIVAL



T. CONCEPCION SOLANAS GUERRERO, Secretario/a del **COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE CANTABRIA**

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del Investigador Principal del estudio:

TÍTULO: ANISAKIS SIMPLEX EN PATOLOGÍA ALÉRGICA Y DIGESTIVA: UTILIDAD DEL DIAGNÓSTICO POR COMPONENTES MOLECULARES

TIPO DE ESTUDIO: Proyecto de Investigación (Código interno: 2016.074)

y considera que:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, teniendo en cuenta los beneficios esperados.
- Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.
- La capacidad del investigador y sus colaboradores, y las instalaciones y medios disponibles, tal y como ha sido informado, son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Este CEIC, emite un informe **FAVORABLE** para que dicho Estudio sea realizado en el **HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUÉS DE VALDECILLA**, actuando como Investigador principal el Dr./Dra. **LETICIA DE LAS VECILLAS SÁNCHEZ**

Como queda reflejado en el Acta: **10/2016**.




Lo que firmo en Santander, a **03 de junio de 2016**



T. CONCEPCION SOLANAS GUERRERO
Secretario/a del CEIC

Edificio IDIVAL, 3ª Planta • Avenida Cardenal Herrera Oria s/n • 39011 SANTANDER (Cantabria)
Tlfno: 942 315 515 • Fax: 942 315 517 • www.idival.org • e-mails: eclinicos3@idival.org y eclinicos4@idival.org

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE: GRUPO DE PACIENTES ALÉRGICOS Y GRUPO DE PACIENTES CON DISPEPSIA

 <p>HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Título del estudio: ANISAKIS SIMPLEX EN PATOLOGÍA ALÉRGICA Y DIGESTIVA. UTILIDAD DEL DIAGNÓSTICO POR COMPONENTES MOLECULARES. INVESTIGADOR PRINCIPAL: Leticia De las Vecillas Sánchez CENTRO: Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV)</p> <p>INTRODUCCIÓN Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica correspondiente y respeta la normativa vigente. Nuestra intención es proporcionarle información adecuada y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en el estudio. Para ello lea con atención esta hoja informativa y luego podrá preguntar cualquier duda que le surja relativa al estudio. Además puede consultar con cualquier persona que considere oportuno.</p> <p>PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y puede decidir no participar. En caso de que decida participar en el estudio puede cambiar su decisión y retirar su consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico y sin que se produzca perjuicio alguno en su tratamiento. Usted no recibirá ningún tipo de compensación económica o de cualquier otro tipo por su participación.</p> <p>DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO El estudio se centra en establecer la prevalencia de alergia al <i>Anisakis simplex</i> en Cantabria, mejorar las pruebas diagnósticas y valorar la importancia que el contacto con este parásito tiene en casos de urticaria crónica y molestias gástricas inespecíficas.</p> <p>El <i>Anisakis simplex</i> es un parásito que a través de la ingesta de pescado fresco o poco cocinado, puede producir molestias abdominales inespecíficas o manifestaciones alérgicas. La cultura gastronómica de Cantabria favorece su incidencia.</p> <p>La participación en el estudio implica la aceptación de la metodología, que para el paciente consta de procedimientos habituales para diagnosticar una sensibilización al <i>Anisakis</i> en las consultas del Servicio de Alergología. Estos son:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Un prick test, que consiste en aplicar una gota del extracto de <i>Anisakis simplex</i> en la cara anterior del antebrazo y hacer una ligera punción con una lanceta. En caso de que usted esté sensibilizado, aparecerá un habón y picor. • Y un análisis de sangre para analizar el grado de sensibilización, congelando en el hospital parte de esa sangre. Si usted tiene un resultado positivo, se enviará la muestra congelada al Servicio de Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela para ampliar el estudio. <p>Además, por participar, deberá cumplimentar un cuestionario sobre hábitos de consumo de pescado (10 minutos).</p>	<p>Beneficios de la participación en el estudio. Se espera mejorar el conocimiento científico relativo al diagnóstico y la importancia en diferentes enfermedades que el <i>Anisakis simplex</i> tiene en la comunidad de Cantabria. Puede que otros pacientes se beneficien en el futuro. Es posible que usted no reciba ningún beneficio directo en su salud por su participación en este estudio. Posteriormente se informará a los participantes del resultado de sus pruebas y conclusiones del estudio.</p> <p>Riesgos de la participación en el estudio. La muestra de sangre se obtendrá mediante el venopunción, lo que puede suponerle las molestias secundarias a esta técnica (dolor, escozor, hematomas). Al igual que la prueba cutánea (prick test) que puede producir picor local. Si su médico del estudio considera que seguir participando puede suponer un riesgo para su salud puede retirarle del mismo aún sin su consentimiento.</p> <p>CIRCUITO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS Este estudio cumple la normativa vigente de la Ley 14/2007 de investigación biomédica en cuanto a la protección de los derechos de los pacientes que quieren libremente participar y el manejo de muestras biológicas. Se obtendrán 10 ml de muestra de sangre de cada paciente en tubos sin aditivos. Mediante centrifugación se separará el suero y se mantendrá congelado a - 20ºC en el Servicio de Alergología hasta obtener las muestras de todos los pacientes, siendo la Dra. De las Vecillas la responsable de las mismas. Una vez recogido el total de las muestras de suero se enviarán al laboratorio de Inmunología del HUMV y al de Parasitología de la USC para ser analizadas. Las muestras tendrán el mismo sistema de codificación que el empleado en el CRD, garantizando la confidencialidad y el anonimato de la información.</p>	<p>CONFIDENCIALIDAD Todos los datos de carácter personal se tratarán de acuerdo a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento que la desarrolla. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código numérico de forma que no sea posible la identificación del paciente. Sólo el investigador y personas autorizadas relacionadas con el estudio tendrán acceso a dicho código y se comprometen a usar esta información exclusivamente para los fines planteados en el estudio. Los miembros del Comité Ético de Investigación Clínica o Autoridades Sanitarias pueden tener acceso a esta información en cumplimiento de requisitos legales. Se preservará la confidencialidad de estos datos y no podrán ser relacionados con usted, incluso aunque los resultados del estudio sean publicados.</p> <p>DATOS DE CONTACTO Si tiene dudas en cualquier momento puede contactar con el médico del estudio: Dra. Leticia De las Vecillas Sánchez. E-mail: leticia.delasvecillas@scs.es</p>	
---	---	---	--

11.2 CONSENTIMIENTO INFORMADO: GRUPO DE PACIENTES ALÉRGICOS Y GRUPO DE PACIENTES CON DISPEPSIA



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PARTICIPANTE EN EL ESTUDIO:

Título del estudio: **ANISAKIS SIMPLEX EN PATOLOGÍA ALÉRGICA Y DIGESTIVA. UTILIDAD DEL DIAGNÓSTICO POR COMPONENTES MOLECULARES.**

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Leticia De las Vecillas Sánchez

CENTRO: Hospital Universitario Marqués de Valdecilla

D./Dña. _____

(Nombre y apellidos del paciente en MAYÚSCULAS)

- He leído y comprendido la hoja de información que se me ha entregado sobre el estudio arriba indicado.
- He recibido suficiente información sobre el estudio.
- He realizado todas las preguntas que he precisado sobre el estudio.

He hablado con la Dra. _____
con quien he clarificado las posibles dudas.

- Comprendo que mi participación es voluntaria.
- Comprendo que puedo retirarme del estudio: cuando quiera, sin dar explicaciones y sin que repercuta en mis cuidados médicos
- Comprendo que la información personal que aporte será confidencial y no se mostrará a nadie sin mi consentimiento.
- Comprendo que mi participación en el estudio implica autorizar la realización de las técnicas explicada en la hoja de información al paciente (pruebas cutáneas, extracción de sangre, procesamiento y análisis inmunológico del suero).

Y presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Firma del investigador

Firma del paciente

Santander a _____ de _____ de 20.....

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO:

Yo, D./Dña. _____
retiro el consentimiento otorgado para mi participación en el estudio arriba citado.

Fecha y firma:

11.3 HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE: GRUPO DE DONANTES

 <p>HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE DEL BANCO DE SANGRE Y TEJIDOS DE CANTABRIA</p> <p>Título del estudio: ANISAKIS SIMPLEX EN PATOLOGÍA ALÉRGICA Y DIGESTIVA. UTILIDAD DEL DIAGNÓSTICO POR COMPONENTES MOLECULARES. INVESTIGADOR PRINCIPAL: Leticia De las Vecillas Sánchez CENTRO: Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV)</p> <p>INTRODUCCIÓN</p> <p>Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica correspondiente y respeta la normativa vigente. Nuestra intención es proporcionarle información adecuada y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en el estudio. Para ello lea con atención esta hoja informativa y luego podrá preguntar cualquier duda que le surja relativa al estudio. Además puede consultar con cualquier persona que considere oportuno.</p> <p>PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA</p> <p>Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y puede decidir no participar. En caso de que decida participar en el estudio puede cambiar su decisión y retirar su consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico y sin que se produzca perjuicio alguno en su tratamiento. Usted no recibirá ningún tipo de compensación económica o de cualquier otro tipo por su participación.</p> <p>DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO</p> <p>El estudio se centra en establecer la prevalencia de alergia al <i>Anisakis simplex</i> en Cantabria, mejorar las pruebas diagnósticas y valorar la importancia que el contacto con este parásito tiene en casos de urticaria crónica y molestias gástricas inespecíficas. El <i>Anisakis simplex</i> es un parásito que a través de la ingesta de pescado fresco o poco cocinado, puede producir molestias abdominales inespecíficas o manifestaciones alérgicas. La cultura gastronómica de Cantabria favorece su incidencia.</p> <p>Usted formará parte de un grupo de pacientes que representa a la población general en los que se quiere valorar si están sensibilizados al parásitos.</p> <p>La participación en el estudio implica la aceptación de la metodología, que consistirá en:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Firmar el consentimiento informado y cumplimentar una breve encuesta sobre hábitos de consumo de pescado (10 minutos). ● Una extracción de sangre coincidiendo con la donación, para valorar la sensibilización al <i>Anisakis</i>, congelando parte de la sangre. <p>Si hay un resultado positivo de sensibilización en la sangre se contactará posteriormente con usted (telefónicamente o por correo postal) para que acuda a una consulta en el Servicio de Alergología (2ª planta de Valdecilla Sur) donde se completará el estudio con un prick test (20 minutos). Esta prueba consiste en aplicar una gota del extracto de <i>Anisakis simplex</i> en la cara anterior del antebrazo y hacer una ligera punción con una lanceta. En caso de que usted esté sensibilizado, aparecerá un habón y picor. Además se enviarán las muestras de suero congeladas al Servicio de Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela para ampliar el estudio.</p>	<p>Beneficios de la participación en el estudio.</p> <p>Se espera mejorar el conocimiento científico relativo al diagnóstico y la importancia en diferentes enfermedades que el <i>Anisakis Simplex</i> tiene en la comunidad de Cantabria. Puede que otros pacientes se beneficien en el futuro. Es posible que usted no reciba ningún beneficio directo en su salud por su participación en este estudio. Al finalizar el estudio se informará a los participantes del resultado de sus pruebas y conclusiones del estudio.</p> <p>Riesgos de la participación en el estudio.</p> <p>La muestra de sangre se obtendrá mediante la venopunción a la que se somete para la donación. La prueba cutánea (prick test) puede producir picor local. Si su médico del estudio considera que seguir participando puede suponer un riesgo para su salud puede retirarle del mismo aún sin su consentimiento.</p> <p>CIRCUITO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS</p> <p>Este estudio cumple la normativa vigente de la Ley 14/2007 de investigación biomédica en cuanto a la protección de los derechos de los pacientes que quieran libremente participar y el manejo de muestras biológicas.</p> <p>Se obtendrán 5 ml de muestra de sangre de cada paciente en tubos sin aditivos. Mediante centrifugación se separará el suero y se mantendrá congelado a - 20°C en el Servicio de Alergología hasta obtener las muestras de todos los pacientes, siendo la Dra. De las Vecillas la responsable de las mismas. Una vez recogido el total, se enviarán al laboratorio de Inmunología del HUMV y al de Parasitología de la USC para ser analizadas. Las muestras tendrán el mismo sistema de codificación que el empleado en el CRD, garantizando la confidencialidad y el anonimato de la información.</p> <p>CONFIDENCIALIDAD</p> <p>Todos los datos de carácter personal se tratarán de acuerdo a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento que la desarrolla. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código numérico de forma que no sea posible la identificación del paciente. Sólo el investigador y personas autorizadas relacionadas con el estudio tendrán acceso a dicho código y se comprometen a usar esta información exclusivamente para los fines planteados en el estudio. Los miembros del Comité Ético de Investigación Clínica o Autoridades Sanitarias pueden tener acceso a esta información en cumplimiento de requisitos legales. Se preservará la confidencialidad de estos datos y no podrán ser relacionados con usted, incluso aunque los resultados del estudio sean publicados.</p> <p>Si tiene dudas en cualquier momento puede contactar con el médico del estudio: Dra. Leticia De las Vecillas Sánchez Tfno. 942202670 E-mail: ldv@humv.es</p>
---	--

11.4 CONSENTIMIENTO INFORMADO: GRUPO DE DONANTES

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PARTICIPANTE EN EL ESTUDIO:**

Título del estudio: **ANISAKIS SIMPLEX EN PATOLOGÍA ALÉRGICA Y DIGESTIVA. UTILIDAD DEL DIAGNÓSTICO POR COMPONENTES MOLECULARES.**

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Leticia De las Vecillas Sánchez

CENTRO: Hospital Universitario Marqués de Valdecilla

D./Dña. _____

(Nombre y apellidos del paciente en MAYÚSCULAS)

- He leído y comprendido la hoja de información que se me ha entregado sobre el estudio arriba indicado.
- He recibido suficiente información sobre el estudio.
- He realizado todas las preguntas que he precisado sobre el estudio.

He hablado con el personal del Banco de Sangre y Tejidos de Cantabria con quien he clarificado las posibles dudas.

- Comprendo que mi participación es voluntaria.
- Comprendo que puedo retirarme del estudio: cuando quiera, sin dar explicaciones y sin que repercuta en mis cuidados médicos
- Comprendo que la información relativa a mis datos personales que se obtienen durante el proceso de donación de sangre pueden ser cedidos por el Banco de Sangre y Tejidos de Cantabria al investigador principal de este estudio para ser utilizados únicamente en relación a éste. Además será confidencial y no se mostrará a nadie sin mi consentimiento.
- Comprendo que mi participación en el estudio implica autorizar la realización de las técnicas explicada en la hoja de información al paciente (pruebas cutáneas, extracción de sangre, procesamiento y análisis inmunológico del suero).
- Comprendo que puede ejercer mis derechos de acceso, rectificación y cancelación, mediante solicitud escrita y firmada dirigida al investigador principal de este estudio:

Dra. Leticia De las Vecillas Sánchez Tfno. 942202670 E-mail: ide@humv.es

Y presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Firma del investigador

Firma del paciente

Santander a _____ de _____ de 20.....

11.5 CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

<p style="text-align: right;">Nº PACIENTE: GRUPO <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4</p> <p style="text-align: center;">ANISAKIS SIMPLEX EN PATOLOGÍA ALÉRGICA Y DIGESTIVA. UTILIDAD DEL DIAGNÓSTICO POR COMPONENTES MOLECULARES.</p> <p>FECHA: ____/____/____</p> <p>Marque una opción: FECHA: ____/____/____</p> <p><input type="checkbox"/> Cuando como pescado tengo brotes de ronchas o molestias gástricas</p> <p><input type="checkbox"/> Tengo ronchas/picor sin clara relación con comer pescado</p> <p><input type="checkbox"/> Tengo molestias gastrointestinales sin clara relación con comer pescado</p> <p><input type="checkbox"/> No tengo molestias gástricas ni urticaria (ronchas que pican) ni problemas con comer pescado</p> <p>Fecha de nacimiento: ____ años Hábitos tóxicos: <input type="checkbox"/> tabaco <input type="checkbox"/> alcohol</p> <p>Motivo de consulta: ____ Sexo: <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F</p> <p>Empleo: ____ Activo: <input type="checkbox"/> sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>Lugar de residencia actual: ____ <input type="checkbox"/> costa <input type="checkbox"/> interior Tiempo: ____ años</p> <p style="text-align: center;">CUESTIONARIO ESPECÍFICO HáBITOS DIETÉTICOS</p> <p style="text-align: center;">Marque una opción en cada fila</p> <p>¿CON QUÉ FRECUENCIA COME USTED PESCADO?</p> <p>1. <input type="checkbox"/> Diario <input type="checkbox"/> 2-3 veces/semana <input type="checkbox"/> 1 vez / semana <input type="checkbox"/> Menos 1 vez/semana <input type="checkbox"/> Nunca</p> <p>¿QUÉ TIPO DE PESCADO CONSUME CON MAYOR FRECUENCIA?</p> <p>2. <input type="checkbox"/> Fresco <input type="checkbox"/> Congelado en casa <input type="checkbox"/> Ultracongelado</p> <p>3. <input type="checkbox"/> Salvaje <input type="checkbox"/> Piscifactoría <input type="checkbox"/> En conserva</p> <p>4. <input type="checkbox"/> MERLUZA <input type="checkbox"/> ATÚN <input type="checkbox"/> BONITO <input type="checkbox"/> SARDINAS <input type="checkbox"/> BACALAO <input type="checkbox"/> ANCHOAS/ BOCARTES</p> <p>INDIQUE CUÁL ES LA FORMA DE PREPARACIÓN DEL PESCADO MÁS HABITUAL EN SU DIETA:</p> <p>5. <input type="checkbox"/> Cocido <input type="checkbox"/> Asado <input type="checkbox"/> Frito <input type="checkbox"/> Marinado <input type="checkbox"/> Crudo</p> <p>6. <input type="checkbox"/> Cocinado en casa <input type="checkbox"/> Restaurante <input type="checkbox"/> Envasado</p> <p>7. ¿REALIZA CONSERVAS DE PESCADO EN SU CASA? <input type="checkbox"/> sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>8. ¿CONSUME PESCADO CRUDO O SEMICRUDO? <input type="checkbox"/> sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>9. ¿TOLERA PESCADO CONGELADO? <input type="checkbox"/> sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>• En caso de que los investigadores precisen ponerse en contacto conmigo prefiero que lo hagan:</p> <p><input type="checkbox"/> Por teléfono <input type="checkbox"/> Por correo</p>	<p style="text-align: right;">Nº PACIENTE: GRUPO <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4</p> <p style="text-align: center;">ANISAKIS SIMPLEX EN PATOLOGÍA ALÉRGICA Y DIGESTIVA. UTILIDAD DEL DIAGNÓSTICO POR COMPONENTES MOLECULARES.</p> <p>FECHA: ____/____/____</p> <p style="text-align: center;">CARACTERÍSTICAS DEL CUADRO ALÉRGICO (si procede)</p> <p>- TIEMPO DESDE CONSUMO A APARICIÓN DE CLÍNICA:</p> <p>- ALIMENTO CAUSANTE DE LA CLÍNICA:</p> <p>- CLÍNICA:</p> <p>- COFACTORES:</p> <p>- TRATAMIENTO RECIBIDO:</p> <p>- DURACIÓN DEL/LOS EPISODIO(S):</p> <p>- ALTERACIONES CLÍNICAS Y ANALÍTICAS:</p> <p>- TIEMPO DESDE EL EPISODIO AL ESTUDIO/EXTRACCIÓN ANALÍTICA: ____/____/____</p> <p>Antecedentes de alergia:</p> <p><input type="checkbox"/> Rinoconjuntivitis <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p><input type="checkbox"/> Asma bronquial <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p><input type="checkbox"/> Dermatitis <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p><input type="checkbox"/> Urticaria/angioedema <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p><input type="checkbox"/> Animales <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p><input type="checkbox"/> Alimentos <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p><input type="checkbox"/> Fármacos <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p><input type="checkbox"/> Himenópteros <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p><input type="checkbox"/> Látex</p> <p>Intervenciones quirúrgicas: <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>Hospitalizaciones previas: <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>Transfusiones previas: <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>Antecedentes de infecciones por parásitos: <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>Otras patologías: <input type="checkbox"/> Factores de riesgo CV <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p><input type="checkbox"/> EPOC</p> <p><input type="checkbox"/> Osteoporosis</p> <p><input type="checkbox"/> Endocrino</p> <p><input type="checkbox"/> Inmunológicas</p> <p>Antecedentes de infección por H. Pylori: <input type="checkbox"/> sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>Tratado: <input type="checkbox"/> no <input type="checkbox"/> en curso <input type="checkbox"/> sí Fecha: ____/____/____</p> <p>Tratamiento habitual: <input type="checkbox"/> AINES <input type="checkbox"/> IBPs <input type="checkbox"/> AntiHTA <input type="checkbox"/> _____</p> <p>PRUEBAS CUTÁNEAS Fecha: ____/____/____</p> <p>Antisakiss simplex</p> <div style="border: 1px solid black; width: 100px; height: 40px; margin: 5px 0;"></div> <p>SENSIBILIZACIÓN A OTRO ALÉRGICOS (SI PROCEDE):</p> <p><input type="checkbox"/> Polen <input type="checkbox"/> Ácaros <input type="checkbox"/> Alimentos <input type="checkbox"/> _____</p> <p>EXTRACCIÓN SANGUÍNEA Fecha: ____/____/____</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 25%;">lg E total (KU/L)</td> <td style="width: 25%;">lg E.A. simplex (KU/L)</td> <td style="width: 25%;">Anti- Ani s 1</td> <td style="width: 25%;">Anti- Ani s 7</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>Leucocitos (10,5 x10⁹/L)</td> <td>Eosinófilos (10,5 x10⁹/L (%))</td> </tr> </table> <p>GASTROSCOPIA Fecha: ____/____/____</p>	lg E total (KU/L)	lg E.A. simplex (KU/L)	Anti- Ani s 1	Anti- Ani s 7							Leucocitos (10,5 x10 ⁹ /L)	Eosinófilos (10,5 x10 ⁹ /L (%))
lg E total (KU/L)	lg E.A. simplex (KU/L)	Anti- Ani s 1	Anti- Ani s 7										
		Leucocitos (10,5 x10 ⁹ /L)	Eosinófilos (10,5 x10 ⁹ /L (%))										

11.6 CURVAS CARACTERÍSTICA OPERATIVA DEL RECEPTOR

11.6.1 IgE específica a extracto completo (ImmunoCAP) para el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante

ROC curve	
Variable	igE_anisakis
Classification variable	grupo
Sample size	95
Positive group ^a	49 (51,58%)
Negative group ^b	46 (48,42%)
^a grupo = 1 ^b grupo = 4	
Disease prevalence (%)	12,7
Area under the ROC curve (AUC)	
Area under the ROC curve (AUC)	0,892
Standard Error ^a	0,0322
95% Confidence interval ^b	0,812 to 0,946
z statistic	12,187
Significance level P (Area=0.5)	<0,0001
^a DeLong et al., 1988 ^b Binomial exact	
Youden index	
Youden index J	0,6437
95% Confidence interval ^a	0,4689 to 0,7471
Associated criterion	>7,9
95% Confidence interval ^a	>1,8 to >26,6
Sensitivity	79,59
Specificity	84,78
^a BC _a bootstrap confidence interval (1000 iterations; random number seed: 978).	

Criterion values and coordinates of the ROC curve

Criterion	S	95% CI	E	95% CI	+LR	-LR	+PV	95% CI	-PV	95% CI	Cost
≥0,36	100,00	92,7 - 100,0	0,00	0,0 - 7,7	1,00		12,7	12,7 - 12,7			0,873
>0,36	100,00	92,7 - 100,0	2,17	0,06 - 11,5	1,02	0,00	12,9	12,5 - 13,4	100,0		0,854
>0,37	100,00	92,7 - 100,0	4,35	0,5 - 14,8	1,05	0,00	13,2	12,5 - 13,9	100,0		0,835
>0,39	100,00	92,7 - 100,0	6,52	1,4 - 17,9	1,07	0,00	13,5	12,6 - 14,4	100,0		0,816
>0,41	100,00	92,7 - 100,0	8,70	2,4 - 20,8	1,10	0,00	13,7	12,7 - 14,8	100,0		0,797
>0,48	100,00	92,7 - 100,0	10,87	3,6 - 23,6	1,12	0,00	14,0	12,9 - 15,3	100,0		0,778
>0,49	97,96	89,1 - 99,9	10,87	3,6 - 23,6	1,10	0,19	13,8	12,5 - 15,1	97,3	81,6 - 99,7	0,781
>0,61	97,96	89,1 - 99,9	13,04	4,9 - 26,3	1,13	0,16	14,1	12,7 - 15,6	97,8	84,6 - 99,7	0,762
>0,66	97,96	89,1 - 99,9	15,22	6,3 - 28,9	1,16	0,13	14,4	12,9 - 16,1	98,1	86,8 - 99,8	0,743
>0,71	97,96	89,1 - 99,9	17,39	7,8 - 31,4	1,19	0,12	14,7	13,1 - 16,5	98,3	88,4 - 99,8	0,724
>0,72	97,96	89,1 - 99,9	19,57	9,4 - 33,9	1,22	0,10	15,1	13,3 - 17,0	98,5	89,7 - 99,8	0,705
>0,76	97,96	89,1 - 99,9	21,74	10,9 - 36,4	1,25	0,094	15,4	13,5 - 17,6	98,7	90,7 - 99,8	0,686
>0,77	97,96	89,1 - 99,9	23,91	12,6 - 38,8	1,29	0,085	15,8	13,7 - 18,1	98,8	91,5 - 99,8	0,667

ANEXOS

>0,8	97,96	89,1 - 99,9	26,09	14,3 - 41,1	1,33	0,078	16,2	13,9 - 18,7	98,9	92,2 - 99,8	0,648
>0,84	97,96	89,1 - 99,9	28,26	16,0 - 43,5	1,37	0,072	16,6	14,2 - 19,3	99,0	92,8 - 99,9	0,629
>0,96	97,96	89,1 - 99,9	30,43	17,7 - 45,8	1,41	0,067	17,0	14,4 - 19,9	99,0	93,3 - 99,9	0,610
>1,02	97,96	89,1 - 99,9	34,78	21,4 - 50,2	1,50	0,059	17,9	15,0 - 21,3	99,2	94,2 - 99,9	0,572
>1,03	97,96	89,1 - 99,9	36,96	23,2 - 52,5	1,55	0,055	18,4	15,3 - 22,1	99,2	94,5 - 99,9	0,553
>1,04	97,96	89,1 - 99,9	39,13	25,1 - 54,6	1,61	0,052	19,0	15,6 - 22,9	99,2	94,8 - 99,9	0,534
>1,07	97,96	89,1 - 99,9	41,30	27,0 - 56,8	1,67	0,049	19,5	16,0 - 23,7	99,3	95,1 - 99,9	0,515
>1,2	97,96	89,1 - 99,9	43,48	28,9 - 58,9	1,73	0,047	20,1	16,3 - 24,6	99,3	95,3 - 99,9	0,496
>1,24	97,96	89,1 - 99,9	45,65	30,9 - 61,0	1,80	0,045	20,8	16,7 - 25,5	99,4	95,6 - 99,9	0,477
>1,51	97,96	89,1 - 99,9	47,83	32,9 - 63,1	1,88	0,043	21,5	17,1 - 26,5	99,4	95,8 - 99,9	0,458
>1,79	97,96	89,1 - 99,9	50,00	34,9 - 65,1	1,96	0,041	22,2	17,6 - 27,6	99,4	96,0 - 99,9	0,439
>1,8	97,96	89,1 - 99,9	52,17	36,9 - 67,1	2,05	0,039	23,0	18,0 - 28,8	99,4	96,1 - 99,9	0,420
>1,94	95,92	86,0 - 99,5	52,17	36,9 - 67,1	2,01	0,078	22,6	17,7 - 28,4	98,9	95,7 - 99,7	0,423
>2	95,92	86,0 - 99,5	54,35	39,0 - 69,1	2,10	0,075	23,4	18,2 - 29,6	98,9	95,8 - 99,7	0,404
>2,04	93,88	83,1 - 98,7	56,52	41,1 - 71,1	2,16	0,11	23,9	18,3 - 30,6	98,4	95,4 - 99,5	0,387
>2,18	91,84	80,4 - 97,7	56,52	41,1 - 71,1	2,11	0,14	23,5	17,9 - 30,2	97,9	94,7 - 99,2	0,390
>2,29	91,84	80,4 - 97,7	58,70	43,2 - 73,0	2,22	0,14	24,4	18,5 - 31,6	98,0	94,9 - 99,2	0,371
>2,67	91,84	80,4 - 97,7	60,87	45,4 - 74,9	2,35	0,13	25,5	19,1 - 33,1	98,1	95,1 - 99,3	0,352
>2,9	91,84	80,4 - 97,7	63,04	47,5 - 76,8	2,48	0,13	26,6	19,7 - 34,7	98,2	95,3 - 99,3	0,333
>3,06	91,84	80,4 - 97,7	65,22	49,8 - 78,6	2,64	0,13	27,8	20,4 - 36,5	98,2	95,4 - 99,3	0,314
>3,44	91,84	80,4 - 97,7	67,39	52,0 - 80,5	2,82	0,12	29,1	21,1 - 38,5	98,3	95,6 - 99,3	0,295
>3,95	89,80	77,8 - 96,6	67,39	52,0 - 80,5	2,75	0,15	28,6	20,7 - 38,0	97,8	95,1 - 99,1	0,298
>4,39	87,76	75,2 - 95,4	67,39	52,0 - 80,5	2,69	0,18	28,1	20,3 - 37,5	97,4	94,6 - 98,8	0,300
>4,43	85,71	72,8 - 94,1	67,39	52,0 - 80,5	2,63	0,21	27,7	19,9 - 37,0	97,0	94,1 - 98,5	0,303
>4,44	85,71	72,8 - 94,1	69,57	54,2 - 82,3	2,82	0,21	29,1	20,7 - 39,2	97,1	94,3 - 98,6	0,284
>4,72	83,67	70,3 - 92,7	69,57	54,2 - 82,3	2,75	0,23	28,6	20,3 - 38,6	96,7	93,8 - 98,3	0,286
>4,73	81,63	68,0 - 91,2	69,57	54,2 - 82,3	2,68	0,26	28,1	19,8 - 38,1	96,3	93,3 - 98,0	0,289
>4,74	81,63	68,0 - 91,2	71,74	56,5 - 84,0	2,89	0,26	29,6	20,6 - 40,4	96,4	93,5 - 98,0	0,270
>4,81	81,63	68,0 - 91,2	73,91	58,9 - 85,7	3,13	0,25	31,3	21,6 - 43,0	96,5	93,7 - 98,1	0,251
>5,32	81,63	68,0 - 91,2	76,09	61,2 - 87,4	3,41	0,24	33,2	22,6 - 45,8	96,6	93,9 - 98,1	0,232
>6,03	81,63	68,0 - 91,2	78,26	63,6 - 89,1	3,76	0,23	35,3	23,7 - 49,0	96,7	94,1 - 98,2	0,213
>6,79	79,59	65,7 - 89,8	78,26	63,6 - 89,1	3,66	0,26	34,8	23,2 - 48,4	96,3	93,7 - 97,9	0,216
>7,15	79,59	65,7 - 89,8	80,43	66,1 - 90,6	4,07	0,25	37,2	24,5 - 52,0	96,4	93,9 - 98,0	0,197
>7,69	79,59	65,7 - 89,8	82,61	68,6 - 92,2	4,58	0,25	40,0	25,9 - 55,9	96,5	94,0 - 98,0	0,178
>7,9	79,59	65,7 - 89,8	84,78	71,1 - 93,7	5,23	0,24	43,2	27,5 - 60,4	96,6	94,2 - 98,1	0,159
>8,12	77,55	63,4 - 88,2	84,78	71,1 - 93,7	5,10	0,26	42,6	26,9 - 59,9	96,3	93,8 - 97,8	0,161
>8,53	75,51	61,1 - 86,7	84,78	71,1 - 93,7	4,96	0,29	41,9	26,4 - 59,3	96,0	93,5 - 97,5	0,164
>9,48	75,51	61,1 - 86,7	86,96	73,7 - 95,1	5,79	0,28	45,7	28,2 - 64,4	96,1	93,6 - 97,6	0,145
>9,49	73,47	58,9 - 85,1	86,96	73,7 - 95,1	5,63	0,31	45,0	27,6 - 63,8	95,8	93,3 - 97,3	0,148
>13,2	71,43	56,7 - 83,4	86,96	73,7 - 95,1	5,48	0,33	44,3	27,0 - 63,2	95,4	93,0 - 97,1	0,150
>13,5	69,39	54,6 - 81,7	86,96	73,7 - 95,1	5,32	0,35	43,6	26,4 - 62,5	95,1	92,7 - 96,8	0,153
>14	69,39	54,6 - 81,7	89,13	76,4 - 96,4	6,38	0,34	48,2	28,5 - 68,4	95,2	92,8 - 96,9	0,134
>14,3	67,35	52,5 - 80,1	89,13	76,4 - 96,4	6,20	0,37	47,4	27,8 - 67,8	94,9	92,5 - 96,6	0,136
>15,9	65,31	50,4 - 78,3	89,13	76,4 - 96,4	6,01	0,39	46,6	27,2 - 67,2	94,6	92,2 - 96,3	0,139
>16,3	65,31	50,4 - 78,3	91,30	79,2 - 97,6	7,51	0,38	52,2	29,5 - 74,0	94,8	92,4 - 96,4	0,120
>16,5	63,27	48,3 - 76,6	91,30	79,2 - 97,6	7,28	0,40	51,4	28,8 - 73,4	94,5	92,1 - 96,1	0,123
>18	63,27	48,3 - 76,6	93,48	82,1 - 98,6	9,70	0,39	58,5	31,6 - 81,1	94,6	92,3 - 96,2	0,104
>20,6	61,22	46,2 - 74,8	93,48	82,1 - 98,6	9,39	0,41	57,7	30,9 - 80,7	94,3	92,0 - 96,0	0,106
>21,2	61,22	46,2 - 74,8	95,65	85,2 - 99,5	14,08	0,41	67,2	34,2 - 89,0	94,4	92,2 - 96,0	0,0872
>23,4	59,18	44,2 - 73,0	95,65	85,2 - 99,5	13,61	0,43	66,4	33,4 - 88,7	94,2	92,0 - 95,8	0,0898
>26,6	59,18	44,2 - 73,0	97,83	88,5 - 99,9	27,22	0,42	79,8	36,0 - 96,5	94,3	92,1 - 95,9	0,0708
>30,1	57,14	42,2 - 71,2	97,83	88,5 - 99,9	26,29	0,44	79,3	35,2 - 96,4	94,0	91,9 - 95,6	0,0734
>30,4	55,10	40,2 - 69,3	97,83	88,5 - 99,9	25,35	0,46	78,7	34,3 - 96,3	93,7	91,6 - 95,3	0,0760
>31,1	53,06	38,3 - 67,5	97,83	88,5 - 99,9	24,41	0,48	78,0	33,4 - 96,2	93,5	91,4 - 95,1	0,0786
>37,5	51,02	36,3 - 65,6	97,83	88,5 - 99,9	23,47	0,50	77,3	32,5 - 96,0	93,2	91,1 - 94,8	0,0812
>37,8	48,98	34,4 - 63,7	97,83	88,5 - 99,9	22,53	0,52	76,6	31,6 - 95,9	92,9	90,9 - 94,6	0,0838
>39,5	46,94	32,5 - 61,7	97,83	88,5 - 99,9	21,59	0,54	75,9	30,6 - 95,7	92,7	90,7 - 94,3	0,0864
>40,7	46,94	32,5 - 61,7	100,00	92,3 - 100,0		0,53	100,0		92,8	90,9 - 94,4	0,0674
>41,1	44,90	30,7 - 59,8	100,00	92,3 - 100,0		0,55	100,0		92,6	90,6 - 94,1	0,0700
>44,8	42,86	28,8 - 57,8	100,00	92,3 - 100,0		0,57	100,0		92,3	90,4 - 93,9	0,0726

ANEXOS

>45,8	40,82	27,0 - 55,8	100,00	92,3 - 100,0	0,59	100,0	92,1	90,2 - 93,6	0,0752
>54,3	38,78	25,2 - 53,8	100,00	92,3 - 100,0	0,61	100,0	91,8	90,0 - 93,3	0,0778
>57,4	36,73	23,4 - 51,7	100,00	92,3 - 100,0	0,63	100,0	91,6	89,8 - 93,1	0,0803
>65,1	34,69	21,7 - 49,6	100,00	92,3 - 100,0	0,65	100,0	91,3	89,6 - 92,8	0,0829
>68	32,65	19,9 - 47,5	100,00	92,3 - 100,0	0,67	100,0	91,1	89,4 - 92,5	0,0855
>77,2	30,61	18,3 - 45,4	100,00	92,3 - 100,0	0,69	100,0	90,8	89,2 - 92,3	0,0881
>79	28,57	16,6 - 43,3	100,00	92,3 - 100,0	0,71	100,0	90,6	89,0 - 92,0	0,0907
>81,4	26,53	14,9 - 41,1	100,00	92,3 - 100,0	0,73	100,0	90,3	88,8 - 91,7	0,0933
>88,1	24,49	13,3 - 38,9	100,00	92,3 - 100,0	0,76	100,0	90,1	88,6 - 91,4	0,0959
>89,4	22,45	11,8 - 36,6	100,00	92,3 - 100,0	0,78	100,0	89,9	88,4 - 91,2	0,0985
>90,1	20,41	10,2 - 34,3	100,00	92,3 - 100,0	0,80	100,0	89,6	88,2 - 90,9	0,101
>95,6	18,37	8,8 - 32,0	100,00	92,3 - 100,0	0,82	100,0	89,4	88,1 - 90,6	0,104
>107	16,33	7,3 - 29,7	100,00	92,3 - 100,0	0,84	100,0	89,1	87,9 - 90,3	0,106
>149,2	14,29	5,9 - 27,2	100,00	92,3 - 100,0	0,86	100,0	88,9	87,7 - 90,0	0,109
>154,36	12,24	4,6 - 24,8	100,00	92,3 - 100,0	0,88	100,0	88,7	87,6 - 89,7	0,111
>327	10,20	3,4 - 22,2	100,00	92,3 - 100,0	0,90	100,0	88,4	87,4 - 89,4	0,114
>443	8,16	2,3 - 19,6	100,00	92,3 - 100,0	0,92	100,0	88,2	87,3 - 89,1	0,117
>524	6,12	1,3 - 16,9	100,00	92,3 - 100,0	0,94	100,0	88,0	87,2 - 88,7	0,119
>756	4,08	0,5 - 14,0	100,00	92,3 - 100,0	0,96	100,0	87,8	87,1 - 88,4	0,122
>1570	2,04	0,05 - 10,9	100,00	92,3 - 100,0	0,98	100,0	87,5	87,1 - 88,0	0,124
>5740	0,00	0,0 - 7,3	100,00	92,3 - 100,0	1,00		87,3	87,3 - 87,3	0,127

S: sensibilidad; E: especificidad; +LR: razón de verosimilitud positiva; -LR: razón de verosimilitud negativa; +PV: valor predictivo positivo; -PV: valor predictivo negativo; 95% CI: intervalo de confianza del 95%.

11.6.2 IgE específica frente al alérgeno recombinante Ani s 1 (ELISA, Trisakis-170) para el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante

ROC curve	
Variable	Ani_s1
Classification variable	grupo
Sample size	95
Positive group ^a	49 (51,58%)
Negative group ^b	46 (48,42%)
^a grupo = 1 ^b grupo = 4	
Disease prevalence (%)	12,7
Area under the ROC curve (AUC)	
Area under the ROC curve (AUC)	0,675
Standard Error ^a	0,0572
95% Confidence interval ^b	0,571 to 0,767
z statistic	3,051
Significance level P (Area=0.5)	0,0023
^a DeLong et al., 1988 ^b Binomial exact	
Youden index	
Youden index J	0,3798
95% Confidence interval ^a	0,1996 to 0,5035
Associated criterion	>1,464
95% Confidence interval ^a	>1,34 to >1,576
Sensitivity	51,02
Specificity	86,96
^a BC _a bootstrap confidence interval (1000 iterations; random number seed: 978).	

Criterion values and coordinates of the ROC curve

Criterion	S	95% CI	E	95% CI	+LR	-LR	+PV	95% CI	-PV	95% CI	Cost
≥-0,019	100,00	92,7 - 100,0	0,00	0,0 - 7,7	1,00		12,7	12,7 - 12,7			0,873
>-0,019	97,96	89,1 - 99,9	0,00	0,0 - 7,7	0,98		12,5	12,0 - 12,9	0,0		0,876
>-0,009	95,92	86,0 - 99,5	0,00	0,0 - 7,7	0,96		12,2	11,6 - 12,9	0,0		0,878
>-0,005	93,88	83,1 - 98,7	0,00	0,0 - 7,7	0,94		12,0	11,3 - 12,8	0,0		0,881
>-0,004	91,84	80,4 - 97,7	0,00	0,0 - 7,7	0,92		11,8	10,9 - 12,7	0,0		0,883
>-0,003	91,84	80,4 - 97,7	2,17	0,06 - 11,5	0,94	3,76	12,0	11,1 - 13,0	64,7	17,5 - 94,0	0,864
>-0,001	91,84	80,4 - 97,7	4,35	0,5 - 14,8	0,96	1,88	12,3	11,2 - 13,4	78,5	41,3 - 95,0	0,845
>0	89,80	77,8 - 96,6	6,52	1,4 - 17,9	0,96	1,56	12,3	11,0 - 13,6	81,5	52,7 - 94,6	0,829
>0,001	87,76	75,2 - 95,4	8,70	2,4 - 20,8	0,96	1,41	12,3	10,9 - 13,8	83,0	59,5 - 94,2	0,813
>0,003	87,76	75,2 - 95,4	10,87	3,6 - 23,6	0,98	1,13	12,5	11,0 - 14,2	85,9	66,6 - 94,9	0,794
>0,004	87,76	75,2 - 95,4	13,04	4,9 - 26,3	1,01	0,94	12,8	11,2 - 14,6	88,0	71,8 - 95,5	0,775
>0,005	85,71	72,8 - 94,1	15,22	6,3 - 28,9	1,01	0,94	12,8	11,1 - 14,8	88,0	73,6 - 95,1	0,758
>0,006	85,71	72,8 - 94,1	17,39	7,8 - 31,4	1,04	0,82	13,1	11,2 - 15,2	89,3	76,7 - 95,5	0,739
>0,007	85,71	72,8 - 94,1	19,57	9,4 - 33,9	1,07	0,73	13,4	11,4 - 15,7	90,4	79,3 - 95,9	0,720
>0,008	83,67	70,3 - 92,7	23,91	12,6 - 38,8	1,10	0,68	13,8	11,5 - 16,4	91,0	81,6 - 95,8	0,685
>0,011	81,63	68,0 - 91,2	26,09	14,3 - 41,1	1,10	0,70	13,8	11,5 - 16,6	90,7	82,0 - 95,5	0,669

ANEXOS

>0,012	81,63	68,0 - 91,2	28,26	16,0 - 43,5	1,14	0,65	14,2	11,7 - 17,2	91,4	83,3 - 95,7	0,650
>0,013	81,63	68,0 - 91,2	32,61	19,5 - 48,0	1,21	0,56	15,0	12,2 - 18,3	92,4	85,6 - 96,2	0,612
>0,014	81,63	68,0 - 91,2	34,78	21,4 - 50,2	1,25	0,53	15,4	12,4 - 18,9	92,9	86,5 - 96,4	0,593
>0,018	81,63	68,0 - 91,2	36,96	23,2 - 52,5	1,29	0,50	15,9	12,7 - 19,6	93,3	87,3 - 96,5	0,574
>0,039	81,63	68,0 - 91,2	39,13	25,1 - 54,6	1,34	0,47	16,3	13,0 - 20,3	93,6	88,0 - 96,7	0,555
>0,054	81,63	68,0 - 91,2	41,30	27,0 - 56,8	1,39	0,44	16,8	13,3 - 21,1	93,9	88,6 - 96,8	0,536
>0,057	81,63	68,0 - 91,2	43,48	28,9 - 58,9	1,44	0,42	17,4	13,6 - 21,9	94,2	89,2 - 97,0	0,517
>0,06	79,59	65,7 - 89,8	43,48	28,9 - 58,9	1,41	0,47	17,0	13,3 - 21,5	93,6	88,5 - 96,5	0,519
>0,072	77,55	63,4 - 88,2	43,48	28,9 - 58,9	1,37	0,52	16,6	12,9 - 21,1	93,0	87,8 - 96,1	0,522
>0,082	77,55	63,4 - 88,2	45,65	30,9 - 61,0	1,43	0,49	17,2	13,3 - 22,0	93,3	88,4 - 96,3	0,503
>0,088	77,55	63,4 - 88,2	47,83	32,9 - 63,1	1,49	0,47	17,8	13,6 - 22,9	93,6	88,9 - 96,4	0,484
>0,123	77,55	63,4 - 88,2	50,00	34,9 - 65,1	1,55	0,45	18,4	14,0 - 23,8	93,9	89,4 - 96,5	0,465
>0,132	77,55	63,4 - 88,2	52,17	36,9 - 67,1	1,62	0,43	19,1	14,4 - 24,8	94,1	89,9 - 96,6	0,446
>0,172	77,55	63,4 - 88,2	54,35	39,0 - 69,1	1,70	0,41	19,8	14,8 - 26,0	94,3	90,3 - 96,8	0,427
>0,222	75,51	61,1 - 86,7	54,35	39,0 - 69,1	1,65	0,45	19,4	14,5 - 25,5	93,8	89,7 - 96,4	0,430
>0,224	73,47	58,9 - 85,1	54,35	39,0 - 69,1	1,61	0,49	19,0	14,1 - 25,1	93,4	89,2 - 96,0	0,432
>0,31	71,43	56,7 - 83,4	54,35	39,0 - 69,1	1,56	0,53	18,5	13,7 - 24,6	92,9	88,6 - 95,6	0,435
>0,368	71,43	56,7 - 83,4	56,52	41,1 - 71,1	1,64	0,51	19,3	14,1 - 25,8	93,2	89,1 - 95,8	0,416
>0,422	69,39	54,6 - 81,7	56,52	41,1 - 71,1	1,60	0,54	18,8	13,7 - 25,3	92,7	88,6 - 95,4	0,418
>0,531	67,35	52,5 - 80,1	56,52	41,1 - 71,1	1,55	0,58	18,4	13,3 - 24,8	92,2	88,1 - 95,0	0,421
>0,546	67,35	52,5 - 80,1	58,70	43,2 - 73,0	1,63	0,56	19,2	13,8 - 26,1	92,5	88,5 - 95,2	0,402
>0,64	67,35	52,5 - 80,1	60,87	45,4 - 74,9	1,72	0,54	20,0	14,3 - 27,4	92,8	89,0 - 95,3	0,383
>0,651	65,31	50,4 - 78,3	60,87	45,4 - 74,9	1,67	0,57	19,5	13,8 - 26,9	92,3	88,5 - 95,0	0,386
>0,757	63,27	48,3 - 76,6	60,87	45,4 - 74,9	1,62	0,60	19,0	13,4 - 26,3	91,9	88,1 - 94,6	0,388
>0,772	63,27	48,3 - 76,6	63,04	47,5 - 76,8	1,71	0,58	19,9	13,9 - 27,8	92,2	88,5 - 94,8	0,369
>0,795	61,22	46,2 - 74,8	63,04	47,5 - 76,8	1,66	0,62	19,4	13,5 - 27,2	91,8	88,1 - 94,4	0,372
>0,859	61,22	46,2 - 74,8	65,22	49,8 - 78,6	1,76	0,59	20,4	14,0 - 28,7	92,0	88,5 - 94,6	0,353
>0,973	59,18	44,2 - 73,0	65,22	49,8 - 78,6	1,70	0,63	19,8	13,5 - 28,1	91,7	88,1 - 94,2	0,355
>0,974	59,18	44,2 - 73,0	67,39	52,0 - 80,5	1,81	0,61	20,9	14,1 - 29,8	91,9	88,5 - 94,4	0,337
>1,075	59,18	44,2 - 73,0	69,57	54,2 - 82,3	1,94	0,59	22,1	14,7 - 31,7	92,1	88,8 - 94,5	0,318
>1,098	59,18	44,2 - 73,0	71,74	56,5 - 84,0	2,09	0,57	23,4	15,4 - 33,8	92,4	89,2 - 94,7	0,299
>1,226	57,14	42,2 - 71,2	71,74	56,5 - 84,0	2,02	0,60	22,7	14,9 - 33,1	92,0	88,8 - 94,3	0,301
>1,292	57,14	42,2 - 71,2	73,91	58,9 - 85,7	2,19	0,58	24,2	15,6 - 35,4	92,2	89,2 - 94,5	0,282
>1,298	57,14	42,2 - 71,2	76,09	61,2 - 87,4	2,39	0,56	25,8	16,4 - 38,1	92,4	89,5 - 94,6	0,263
>1,303	57,14	42,2 - 71,2	78,26	63,6 - 89,1	2,63	0,55	27,7	17,4 - 41,1	92,6	89,8 - 94,7	0,244
>1,336	55,10	40,2 - 69,3	80,43	66,1 - 90,6	2,82	0,56	29,1	17,8 - 43,7	92,5	89,7 - 94,5	0,228
>1,34	55,10	40,2 - 69,3	82,61	68,6 - 92,2	3,17	0,54	31,5	19,0 - 47,6	92,7	90,0 - 94,7	0,209
>1,391	53,06	38,3 - 67,5	82,61	68,6 - 92,2	3,05	0,57	30,7	18,3 - 46,8	92,4	89,7 - 94,4	0,211
>1,399	53,06	38,3 - 67,5	84,78	71,1 - 93,7	3,49	0,55	33,7	19,6 - 51,3	92,5	90,0 - 94,5	0,192
>1,408	51,02	36,3 - 65,6	84,78	71,1 - 93,7	3,35	0,58	32,8	19,0 - 50,4	92,2	89,7 - 94,2	0,195
>1,464	51,02	36,3 - 65,6	86,96	73,7 - 95,1	3,91	0,56	36,3	20,4 - 55,8	92,4	90,0 - 94,3	0,176
>1,475	48,98	34,4 - 63,7	86,96	73,7 - 95,1	3,76	0,59	35,3	19,7 - 54,8	92,1	89,7 - 94,0	0,179
>1,479	46,94	32,5 - 61,7	86,96	73,7 - 95,1	3,60	0,61	34,4	19,0 - 53,9	91,8	89,4 - 93,7	0,181
>1,523	44,90	30,7 - 59,8	86,96	73,7 - 95,1	3,44	0,63	33,4	18,2 - 52,9	91,6	89,2 - 93,5	0,184
>1,533	42,86	28,8 - 57,8	86,96	73,7 - 95,1	3,29	0,66	32,3	17,5 - 51,9	91,3	88,9 - 93,2	0,186
>1,554	40,82	27,0 - 55,8	86,96	73,7 - 95,1	3,13	0,68	31,3	16,7 - 50,8	91,0	88,6 - 92,9	0,189
>1,558	40,82	27,0 - 55,8	89,13	76,4 - 96,4	3,76	0,66	35,3	18,3 - 57,2	91,2	88,9 - 93,0	0,170
>1,569	38,78	25,2 - 53,8	89,13	76,4 - 96,4	3,57	0,69	34,2	17,4 - 56,1	90,9	88,7 - 92,7	0,173
>1,576	38,78	25,2 - 53,8	91,30	79,2 - 97,6	4,46	0,67	39,3	19,3 - 63,8	91,1	89,0 - 92,9	0,154
>1,597	36,73	23,4 - 51,7	91,30	79,2 - 97,6	4,22	0,69	38,1	18,4 - 62,7	90,8	88,7 - 92,6	0,156
>1,602	34,69	21,7 - 49,6	91,30	79,2 - 97,6	3,99	0,72	36,7	17,4 - 61,5	90,6	88,5 - 92,3	0,159
>1,608	32,65	19,9 - 47,5	91,30	79,2 - 97,6	3,76	0,74	35,3	16,5 - 60,2	90,3	88,3 - 92,0	0,161
>1,622	30,61	18,3 - 45,4	91,30	79,2 - 97,6	3,52	0,76	33,9	15,5 - 58,8	90,0	88,0 - 91,7	0,164
>1,643	28,57	16,6 - 43,3	91,30	79,2 - 97,6	3,29	0,78	32,3	14,5 - 57,4	89,8	87,8 - 91,5	0,167
>1,65	26,53	14,9 - 41,1	91,30	79,2 - 97,6	3,05	0,80	30,7	13,5 - 55,8	89,5	87,6 - 91,2	0,169
>1,683	24,49	13,3 - 38,9	91,30	79,2 - 97,6	2,82	0,83	29,1	12,5 - 54,1	89,3	87,4 - 90,9	0,172
>1,689	22,45	11,8 - 36,6	91,30	79,2 - 97,6	2,58	0,85	27,3	11,4 - 52,3	89,0	87,2 - 90,6	0,174
>1,699	20,41	10,2 - 34,3	91,30	79,2 - 97,6	2,35	0,87	25,5	10,3 - 50,3	88,7	87,0 - 90,3	0,177
>1,702	18,37	8,8 - 32,0	91,30	79,2 - 97,6	2,11	0,89	23,5	9,2 - 48,2	88,5	86,8 - 90,0	0,180
>1,711	16,33	7,3 - 29,7	91,30	79,2 - 97,6	1,88	0,92	21,5	8,1 - 45,8	88,2	86,6 - 89,7	0,182

ANEXOS

>1,714	14,29	5,9 - 27,2	91,30	79,2 - 97,6	1,64	0,94	19,3	7,0 - 43,3	88,0	86,4 - 89,4	0,185
>1,73	14,29	5,9 - 27,2	93,48	82,1 - 98,6	2,19	0,92	24,2	8,1 - 53,7	88,2	86,7 - 89,6	0,166
>1,736	14,29	5,9 - 27,2	95,65	85,2 - 99,5	3,29	0,90	32,3	9,5 - 68,6	88,5	87,1 - 89,7	0,147
>1,744	12,24	4,6 - 24,8	95,65	85,2 - 99,5	2,82	0,92	29,1	8,0 - 65,8	88,2	86,9 - 89,4	0,149
>1,771	10,20	3,4 - 22,2	95,65	85,2 - 99,5	2,35	0,94	25,5	6,5 - 62,6	88,0	86,7 - 89,1	0,152
>1,787	8,16	2,3 - 19,6	95,65	85,2 - 99,5	1,88	0,96	21,5	5,0 - 58,7	87,7	86,6 - 88,8	0,155
>1,814	8,16	2,3 - 19,6	97,83	88,5 - 99,9	3,76	0,94	35,3	6,0 - 82,5	88,0	87,0 - 88,9	0,136
>1,819	6,12	1,3 - 16,9	97,83	88,5 - 99,9	2,82	0,96	29,1	4,2 - 79,2	87,7	86,8 - 88,6	0,138
>1,866	4,08	0,5 - 14,0	97,83	88,5 - 99,9	1,88	0,98	21,5	2,5 - 74,4	87,5	86,7 - 88,3	0,141
>1,883	2,04	0,05 - 10,9	97,83	88,5 - 99,9	0,94	1,00	12,0	0,9 - 68,0	87,3	86,6 - 87,9	0,143
>1,992	2,04	0,05 - 10,9	100,00	92,3 - 100,0		0,98	100,0		87,5	87,1 - 88,0	0,124
>2,181	0,00	0,0 - 7,3	100,00	92,3 - 100,0		1,00			87,3	87,3 - 87,3	0,127

S: sensibilidad; E: especificidad; +LR: razón de verosimilitud positiva; -LR: razón de verosimilitud negativa; +PV: valor predictivo positivo; -PV: valor predictivo negativo; 95% CI: intervalo de confianza del 95%.

11.6.3 IgE específica frente al alérgeno recombinante Ani s 7 (ELISA, Trisakis-170) para el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante

ROC curve	
Variable	Ani_s7
Classification variable	grupo
Sample size	95
Positive group ^a	49 (51,58%)
Negative group ^b	46 (48,42%)
^a grupo = 1 ^b grupo = 4	
Disease prevalence (%)	12,7
Area under the ROC curve (AUC)	
Area under the ROC curve (AUC)	0,678
Standard Error ^a	0,0556
95% Confidence interval ^b	0,574 to 0,770
z statistic	3,204
Significance level P (Area=0.5)	0,0014
^a DeLong et al., 1988 ^b Binomial exact	
Youden index	
Youden index J	0,3381
95% Confidence interval ^a	0,1603 to 0,4725
Associated criterion	>0,589
95% Confidence interval ^a	>0,053 to >1,165
Sensitivity	81,63
Specificity	52,17
^a BC _a bootstrap confidence interval (1000 iterations; random number seed: 978).	

Criterion values and coordinates of the ROC curve

Criterion	S	95% CI	E	95% CI	+LR	-LR	+PV	95% CI	-PV	95% CI	Cost
≥-0,009	100,00	92,7 - 100,0	0,00	0,0 - 7,7	1,00		12,7	12,7 - 12,7			0,873
>-0,009	100,00	92,7 - 100,0	2,17	0,06 - 11,5	1,02	0,00	12,9	12,5 - 13,4	100,0		0,854
>-0,003	100,00	92,7 - 100,0	4,35	0,5 - 14,8	1,05	0,00	13,2	12,5 - 13,9	100,0		0,835
>0,005	97,96	89,1 - 99,9	4,35	0,5 - 14,8	1,02	0,47	13,0	12,2 - 13,8	93,6	57,9 - 99,4	0,838
>0,009	97,96	89,1 - 99,9	6,52	1,4 - 17,9	1,05	0,31	13,2	12,3 - 14,3	95,6	70,3 - 99,5	0,819
>0,023	97,96	89,1 - 99,9	8,70	2,4 - 20,8	1,07	0,23	13,5	12,4 - 14,7	96,7	77,3 - 99,6	0,800
>0,032	97,96	89,1 - 99,9	10,87	3,6 - 23,6	1,10	0,19	13,8	12,5 - 15,1	97,3	81,6 - 99,7	0,781
>0,038	95,92	86,0 - 99,5	10,87	3,6 - 23,6	1,08	0,38	13,5	12,2 - 15,0	94,8	78,9 - 98,9	0,783
>0,05	95,92	86,0 - 99,5	13,04	4,9 - 26,3	1,10	0,31	13,8	12,4 - 15,4	95,6	82,4 - 99,0	0,764
>0,053	95,92	86,0 - 99,5	15,22	6,3 - 28,9	1,13	0,27	14,1	12,6 - 15,9	96,2	84,9 - 99,2	0,745
>0,057	93,88	83,1 - 98,7	15,22	6,3 - 28,9	1,11	0,40	13,9	12,3 - 15,7	94,5	82,4 - 98,4	0,748
>0,073	93,88	83,1 - 98,7	17,39	7,8 - 31,4	1,14	0,35	14,2	12,4 - 16,1	95,1	84,6 - 98,6	0,729
>0,081	91,84	80,4 - 97,7	17,39	7,8 - 31,4	1,11	0,47	13,9	12,1 - 15,9	93,6	82,5 - 97,8	0,732
>0,119	89,80	77,8 - 96,6	17,39	7,8 - 31,4	1,09	0,59	13,7	11,8 - 15,7	92,1	80,5 - 97,1	0,734

>0,129	87,76	75,2 - 95,4	19,57	9,4 - 33,9	1,09	0,63	13,7	11,7 - 15,9	91,7	80,9 - 96,6	0,718
>0,163	87,76	75,2 - 95,4	21,74	10,9 - 36,4	1,12	0,56	14,0	11,9 - 16,4	92,4	82,8 - 96,9	0,699
>0,173	87,76	75,2 - 95,4	23,91	12,6 - 38,8	1,15	0,51	14,4	12,2 - 16,9	93,1	84,4 - 97,1	0,680
>0,18	87,76	75,2 - 95,4	26,09	14,3 - 41,1	1,19	0,47	14,7	12,4 - 17,4	93,6	85,7 - 97,3	0,661
>0,23	87,76	75,2 - 95,4	28,26	16,0 - 43,5	1,22	0,43	15,1	12,6 - 18,0	94,1	86,8 - 97,5	0,642
>0,245	87,76	75,2 - 95,4	30,43	17,7 - 45,8	1,26	0,40	15,5	12,9 - 18,6	94,5	87,8 - 97,6	0,623
>0,258	87,76	75,2 - 95,4	32,61	19,5 - 48,0	1,30	0,38	15,9	13,1 - 19,2	94,8	88,6 - 97,7	0,604
>0,309	87,76	75,2 - 95,4	34,78	21,4 - 50,2	1,35	0,35	16,4	13,4 - 19,9	95,1	89,3 - 97,9	0,585
>0,312	85,71	72,8 - 94,1	34,78	21,4 - 50,2	1,31	0,41	16,1	13,1 - 19,6	94,4	88,3 - 97,4	0,587
>0,323	83,67	70,3 - 92,7	34,78	21,4 - 50,2	1,28	0,47	15,7	12,8 - 19,2	93,6	87,4 - 96,9	0,590
>0,338	83,67	70,3 - 92,7	36,96	23,2 - 52,5	1,33	0,44	16,2	13,0 - 19,9	94,0	88,2 - 97,0	0,571
>0,342	83,67	70,3 - 92,7	39,13	25,1 - 54,6	1,37	0,42	16,7	13,3 - 20,6	94,3	88,8 - 97,2	0,552
>0,363	83,67	70,3 - 92,7	41,30	27,0 - 56,8	1,43	0,40	17,2	13,6 - 21,4	94,6	89,4 - 97,3	0,533
>0,368	83,67	70,3 - 92,7	43,48	28,9 - 58,9	1,48	0,38	17,7	14,0 - 22,2	94,8	90,0 - 97,4	0,514
>0,377	83,67	70,3 - 92,7	45,65	30,9 - 61,0	1,54	0,36	18,3	14,3 - 23,1	95,1	90,4 - 97,5	0,495
>0,378	83,67	70,3 - 92,7	47,83	32,9 - 63,1	1,60	0,34	18,9	14,7 - 24,0	95,3	90,9 - 97,6	0,476
>0,531	81,63	68,0 - 91,2	47,83	32,9 - 63,1	1,56	0,38	18,5	14,3 - 23,6	94,7	90,2 - 97,2	0,479
>0,551	81,63	68,0 - 91,2	50,00	34,9 - 65,1	1,63	0,37	19,2	14,7 - 24,6	94,9	90,7 - 97,3	0,460
>0,589	81,63	68,0 - 91,2	52,17	36,9 - 67,1	1,71	0,35	19,9	15,2 - 25,7	95,1	91,1 - 97,4	0,441
>0,632	79,59	65,7 - 89,8	52,17	36,9 - 67,1	1,66	0,39	19,5	14,8 - 25,3	94,6	90,4 - 97,0	0,443
>0,658	77,55	63,4 - 88,2	52,17	36,9 - 67,1	1,62	0,43	19,1	14,4 - 24,8	94,1	89,9 - 96,6	0,446
>0,668	77,55	63,4 - 88,2	54,35	39,0 - 69,1	1,70	0,41	19,8	14,8 - 26,0	94,3	90,3 - 96,8	0,427
>0,752	75,51	61,1 - 86,7	54,35	39,0 - 69,1	1,65	0,45	19,4	14,5 - 25,5	93,8	89,7 - 96,4	0,430
>0,788	73,47	58,9 - 85,1	54,35	39,0 - 69,1	1,61	0,49	19,0	14,1 - 25,1	93,4	89,2 - 96,0	0,432
>0,797	73,47	58,9 - 85,1	56,52	41,1 - 71,1	1,69	0,47	19,7	14,5 - 26,2	93,6	89,6 - 96,1	0,413
>0,815	73,47	58,9 - 85,1	58,70	43,2 - 73,0	1,78	0,45	20,6	15,0 - 27,5	93,8	90,0 - 96,3	0,394
>0,819	71,43	56,7 - 83,4	58,70	43,2 - 73,0	1,73	0,49	20,1	14,6 - 27,0	93,4	89,5 - 95,9	0,397
>0,825	69,39	54,6 - 81,7	58,70	43,2 - 73,0	1,68	0,52	19,6	14,2 - 26,6	92,9	89,0 - 95,5	0,399
>0,827	69,39	54,6 - 81,7	60,87	45,4 - 74,9	1,77	0,50	20,5	14,7 - 27,9	93,2	89,4 - 95,7	0,380
>0,852	67,35	52,5 - 80,1	60,87	45,4 - 74,9	1,72	0,54	20,0	14,3 - 27,4	92,8	89,0 - 95,3	0,383
>0,873	65,31	50,4 - 78,3	60,87	45,4 - 74,9	1,67	0,57	19,5	13,8 - 26,9	92,3	88,5 - 95,0	0,386
>0,913	65,31	50,4 - 78,3	63,04	47,5 - 76,8	1,77	0,55	20,4	14,3 - 28,3	92,6	88,9 - 95,1	0,367
>0,942	63,27	48,3 - 76,6	63,04	47,5 - 76,8	1,71	0,58	19,9	13,9 - 27,8	92,2	88,5 - 94,8	0,369
>0,943	61,22	46,2 - 74,8	63,04	47,5 - 76,8	1,66	0,62	19,4	13,5 - 27,2	91,8	88,1 - 94,4	0,372
>0,987	61,22	46,2 - 74,8	65,22	49,8 - 78,6	1,76	0,59	20,4	14,0 - 28,7	92,0	88,5 - 94,6	0,353
>1,072	61,22	46,2 - 74,8	67,39	52,0 - 80,5	1,88	0,58	21,5	14,6 - 30,4	92,3	88,8 - 94,7	0,334
>1,165	61,22	46,2 - 74,8	69,57	54,2 - 82,3	2,01	0,56	22,6	15,2 - 32,3	92,5	89,2 - 94,8	0,315
>1,21	59,18	44,2 - 73,0	69,57	54,2 - 82,3	1,94	0,59	22,1	14,7 - 31,7	92,1	88,8 - 94,5	0,318
>1,232	57,14	42,2 - 71,2	69,57	54,2 - 82,3	1,88	0,62	21,5	14,2 - 31,0	91,8	88,5 - 94,2	0,320
>1,272	55,10	40,2 - 69,3	69,57	54,2 - 82,3	1,81	0,65	20,8	13,7 - 30,4	91,4	88,1 - 93,9	0,323
>1,285	53,06	38,3 - 67,5	69,57	54,2 - 82,3	1,74	0,67	20,2	13,2 - 29,7	91,1	87,7 - 93,6	0,325
>1,297	53,06	38,3 - 67,5	71,74	56,5 - 84,0	1,88	0,65	21,5	13,8 - 31,7	91,3	88,1 - 93,7	0,306
>1,322	51,02	36,3 - 65,6	71,74	56,5 - 84,0	1,81	0,68	20,8	13,3 - 31,0	91,0	87,8 - 93,4	0,309
>1,34	48,98	34,4 - 63,7	71,74	56,5 - 84,0	1,73	0,71	20,1	12,8 - 30,2	90,6	87,4 - 93,1	0,312
>1,35	46,94	32,5 - 61,7	71,74	56,5 - 84,0	1,66	0,74	19,5	12,3 - 29,5	90,3	87,1 - 92,8	0,314
>1,351	46,94	32,5 - 61,7	73,91	58,9 - 85,7	1,80	0,72	20,7	12,9 - 31,6	90,5	87,5 - 92,9	0,295
>1,359	44,90	30,7 - 59,8	73,91	58,9 - 85,7	1,72	0,75	20,0	12,3 - 30,8	90,2	87,2 - 92,6	0,298
>1,363	42,86	28,8 - 57,8	73,91	58,9 - 85,7	1,64	0,77	19,3	11,8 - 30,0	89,9	86,9 - 92,3	0,300
>1,396	42,86	28,8 - 57,8	76,09	61,2 - 87,4	1,79	0,75	20,7	12,4 - 32,4	90,2	87,2 - 92,5	0,281
>1,4	40,82	27,0 - 55,8	76,09	61,2 - 87,4	1,71	0,78	19,9	11,8 - 31,5	89,8	86,9 - 92,1	0,284
>1,402	40,82	27,0 - 55,8	78,26	63,6 - 89,1	1,88	0,76	21,5	12,5 - 34,2	90,1	87,3 - 92,3	0,265
>1,434	38,78	25,2 - 53,8	78,26	63,6 - 89,1	1,78	0,78	20,6	11,9 - 33,2	89,8	87,0 - 92,0	0,268
>1,455	38,78	25,2 - 53,8	80,43	66,1 - 90,6	1,98	0,76	22,4	12,7 - 36,3	90,0	87,4 - 92,2	0,249
>1,466	36,73	23,4 - 51,7	80,43	66,1 - 90,6	1,88	0,79	21,5	12,0 - 35,3	89,7	87,1 - 91,9	0,251
>1,467	36,73	23,4 - 51,7	82,61	68,6 - 92,2	2,11	0,77	23,5	12,9 - 38,9	90,0	87,5 - 92,0	0,232
>1,477	36,73	23,4 - 51,7	84,78	71,1 - 93,7	2,41	0,75	26,0	13,9 - 43,2	90,2	87,8 - 92,2	0,213
>1,522	34,69	21,7 - 49,6	84,78	71,1 - 93,7	2,28	0,77	24,9	13,2 - 42,0	89,9	87,6 - 91,9	0,216
>1,558	34,69	21,7 - 49,6	86,96	73,7 - 95,1	2,66	0,75	27,9	14,3 - 47,2	90,2	87,9 - 92,0	0,197
>1,602	32,65	19,9 - 47,5	86,96	73,7 - 95,1	2,50	0,77	26,7	13,5 - 45,9	89,9	87,6 - 91,7	0,199
>1,612	30,61	18,3 - 45,4	86,96	73,7 - 95,1	2,35	0,80	25,5	12,7 - 44,6	89,6	87,4 - 91,5	0,202

ANEXOS

>1,62	28,57	16,6 - 43,3	86,96	73,7 - 95,1	2,19	0,82	24,2	11,8 - 43,1	89,3	87,2 - 91,2	0,205
>1,624	26,53	14,9 - 41,1	86,96	73,7 - 95,1	2,03	0,84	22,8	10,9 - 41,6	89,1	86,9 - 90,9	0,207
>1,633	26,53	14,9 - 41,1	89,13	76,4 - 96,4	2,44	0,82	26,2	12,1 - 47,9	89,3	87,3 - 91,0	0,188
>1,651	26,53	14,9 - 41,1	91,30	79,2 - 97,6	3,05	0,80	30,7	13,5 - 55,8	89,5	87,6 - 91,2	0,169
>1,665	24,49	13,3 - 38,9	91,30	79,2 - 97,6	2,82	0,83	29,1	12,5 - 54,1	89,3	87,4 - 90,9	0,172
>1,668	22,45	11,8 - 36,6	91,30	79,2 - 97,6	2,58	0,85	27,3	11,4 - 52,3	89,0	87,2 - 90,6	0,174
>1,682	20,41	10,2 - 34,3	91,30	79,2 - 97,6	2,35	0,87	25,5	10,3 - 50,3	88,7	87,0 - 90,3	0,177
>1,684	18,37	8,8 - 32,0	91,30	79,2 - 97,6	2,11	0,89	23,5	9,2 - 48,2	88,5	86,8 - 90,0	0,180
>1,689	18,37	8,8 - 32,0	93,48	82,1 - 98,6	2,82	0,87	29,1	10,6 - 58,7	88,7	87,1 - 90,2	0,161
>1,725	16,33	7,3 - 29,7	93,48	82,1 - 98,6	2,50	0,90	26,7	9,3 - 56,3	88,5	86,9 - 89,9	0,163
>1,728	14,29	5,9 - 27,2	93,48	82,1 - 98,6	2,19	0,92	24,2	8,1 - 53,7	88,2	86,7 - 89,6	0,166
>1,73	14,29	5,9 - 27,2	95,65	85,2 - 99,5	3,29	0,90	32,3	9,5 - 68,6	88,5	87,1 - 89,7	0,147
>1,739	12,24	4,6 - 24,8	95,65	85,2 - 99,5	2,82	0,92	29,1	8,0 - 65,8	88,2	86,9 - 89,4	0,149
>1,76	12,24	4,6 - 24,8	97,83	88,5 - 99,9	5,63	0,90	45,0	9,3 - 86,8	88,5	87,3 - 89,6	0,130
>1,769	10,20	3,4 - 22,2	97,83	88,5 - 99,9	4,69	0,92	40,6	7,7 - 84,9	88,2	87,1 - 89,3	0,133
>1,773	8,16	2,3 - 19,6	97,83	88,5 - 99,9	3,76	0,94	35,3	6,0 - 82,5	88,0	87,0 - 88,9	0,136
>1,877	6,12	1,3 - 16,9	97,83	88,5 - 99,9	2,82	0,96	29,1	4,2 - 79,2	87,7	86,8 - 88,6	0,138
>1,904	4,08	0,5 - 14,0	97,83	88,5 - 99,9	1,88	0,98	21,5	2,5 - 74,4	87,5	86,7 - 88,3	0,141
>1,906	2,04	0,05 - 10,9	97,83	88,5 - 99,9	0,94	1,00	12,0	0,9 - 68,0	87,3	86,6 - 87,9	0,143
>1,934	0,00	0,0 - 7,3	97,83	88,5 - 99,9	0,00	1,02	0,0		87,1	86,6 - 87,5	0,146
>1,959	0,00	0,0 - 7,3	100,00	92,3 - 100,0		1,00			87,3	87,3 - 87,3	0,127

S: sensibilidad; E: especificidad; +LR: razón de verosimilitud positiva; -LR: razón de verosimilitud negativa; +PV: valor predictivo positivo; -PV: valor predictivo negativo; 95% CI: intervalo de confianza del 95%.

11.6.4 IgE específica a extracto completo (InmunoCAP) en el diagnóstico de anafilaxia

ROC curve	
Variable	igE_anisakis
Classification variable	Anafilaxia
Sample size	49
Positive group ^a	24 (48,98%)
Negative group ^b	25 (51,02%)
^a Anafilaxia = 1	
^b Anafilaxia = 0	
Disease prevalence (%)	unknown
Area under the ROC curve (AUC)	
Area under the ROC curve (AUC)	0,743
Standard Error ^a	0,0738
95% Confidence interval ^b	0,599 to 0,857
z statistic	3,297
Significance level P (Area=0.5)	0,0010
^a DeLong et al., 1988	
^b Binomial exact	
Youden index	
Youden index J	0,4667
Associated criterion	>44,8
Sensitivity	66,67
Specificity	80,00
^a BC _a bootstrap confidence interval (1000 iterations; random number seed: 978).	

Criterion values and coordinates of the ROC curve

Criterion	Sensitivity	95% CI	Specificity	95% CI	+LR	-LR
≥0,49	100,00	85,8 - 100,0	0,00	0,0 - 13,7	1,00	
>0,49	100,00	85,8 - 100,0	4,00	0,1 - 20,4	1,04	0,00
>1,94	100,00	85,8 - 100,0	8,00	1,0 - 26,0	1,09	0,00
>2,04	95,83	78,9 - 99,9	8,00	1,0 - 26,0	1,04	0,52
>2,18	95,83	78,9 - 99,9	12,00	2,5 - 31,2	1,09	0,35
>3,95	95,83	78,9 - 99,9	16,00	4,5 - 36,1	1,14	0,26
>4,39	95,83	78,9 - 99,9	20,00	6,8 - 40,7	1,20	0,21
>4,43	95,83	78,9 - 99,9	24,00	9,4 - 45,1	1,26	0,17
>4,72	91,67	73,0 - 99,0	24,00	9,4 - 45,1	1,21	0,35
>4,73	91,67	73,0 - 99,0	28,00	12,1 - 49,4	1,27	0,30
>6,79	87,50	67,6 - 97,3	28,00	12,1 - 49,4	1,22	0,45
>8,12	87,50	67,6 - 97,3	32,00	14,9 - 53,5	1,29	0,39
>8,53	87,50	67,6 - 97,3	36,00	18,0 - 57,5	1,37	0,35
>9,49	87,50	67,6 - 97,3	40,00	21,1 - 61,3	1,46	0,31

>13,2	83,33	62,6 - 95,3	40,00	21,1 - 61,3	1,39	0,42
>13,5	83,33	62,6 - 95,3	44,00	24,4 - 65,1	1,49	0,38
>14,3	83,33	62,6 - 95,3	48,00	27,8 - 68,7	1,60	0,35
>15,9	83,33	62,6 - 95,3	52,00	31,3 - 72,2	1,74	0,32
>16,5	83,33	62,6 - 95,3	56,00	34,9 - 75,6	1,89	0,30
>20,6	79,17	57,8 - 92,9	56,00	34,9 - 75,6	1,80	0,37
>23,4	79,17	57,8 - 92,9	60,00	38,7 - 78,9	1,98	0,35
>30,1	79,17	57,8 - 92,9	64,00	42,5 - 82,0	2,20	0,33
>30,4	75,00	53,3 - 90,2	64,00	42,5 - 82,0	2,08	0,39
>31,1	70,83	48,9 - 87,4	64,00	42,5 - 82,0	1,97	0,46
>37,5	70,83	48,9 - 87,4	68,00	46,5 - 85,1	2,21	0,43
>37,8	70,83	48,9 - 87,4	72,00	50,6 - 87,9	2,53	0,41
>39,5	66,67	44,7 - 84,4	72,00	50,6 - 87,9	2,38	0,46
>41,1	66,67	44,7 - 84,4	76,00	54,9 - 90,6	2,78	0,44
>44,8	66,67	44,7 - 84,4	80,00	59,3 - 93,2	3,33	0,42
>45,8	62,50	40,6 - 81,2	80,00	59,3 - 93,2	3,13	0,47
>54,3	62,50	40,6 - 81,2	84,00	63,9 - 95,5	3,91	0,45
>57,4	58,33	36,6 - 77,9	84,00	63,9 - 95,5	3,65	0,50
>65,1	54,17	32,8 - 74,4	84,00	63,9 - 95,5	3,39	0,55
>68	50,00	29,1 - 70,9	84,00	63,9 - 95,5	3,12	0,60
>77,2	45,83	25,6 - 67,2	84,00	63,9 - 95,5	2,86	0,64
>79	45,83	25,6 - 67,2	88,00	68,8 - 97,5	3,82	0,62
>81,4	41,67	22,1 - 63,4	88,00	68,8 - 97,5	3,47	0,66
>88,1	37,50	18,8 - 59,4	88,00	68,8 - 97,5	3,12	0,71
>89,4	37,50	18,8 - 59,4	92,00	74,0 - 99,0	4,69	0,68
>90,1	33,33	15,6 - 55,3	92,00	74,0 - 99,0	4,17	0,72
>95,6	29,17	12,6 - 51,1	92,00	74,0 - 99,0	3,65	0,77
>107	25,00	9,8 - 46,7	92,00	74,0 - 99,0	3,13	0,82
>149,2	20,83	7,1 - 42,2	92,00	74,0 - 99,0	2,60	0,86
>154,36	16,67	4,7 - 37,4	92,00	74,0 - 99,0	2,08	0,91
>327	12,50	2,7 - 32,4	92,00	74,0 - 99,0	1,56	0,95
>443	8,33	1,0 - 27,0	92,00	74,0 - 99,0	1,04	1,00
>524	8,33	1,0 - 27,0	96,00	79,6 - 99,9	2,08	0,95
>756	4,17	0,1 - 21,1	96,00	79,6 - 99,9	1,04	1,00
>1570	0,00	0,0 - 14,2	96,00	79,6 - 99,9	0,00	1,04
>5740	0,00	0,0 - 14,2	100,00	86,3 - 100,0		1,00

LR: razón de verosimilitud positiva; -LR: razón de verosimilitud negativa; 95% CI: intervalo de confianza del 95%.

11.6.5 IgE específica frente al alérgeno Ani s 1 (ELISA, Trisakis-170) en el diagnóstico de anafilaxia

ROC curve	
Variable	Ani s1
Classification variable	Anafilaxia
Sample size	49
Positive group ^a	24 (48,98%)
Negative group ^b	25 (51,02%)
^a Anafilaxia = 1	
^b Anafilaxia = 0	
Disease prevalence (%)	unknown
Area under the ROC curve (AUC)	
Area under the ROC curve (AUC)	0,733
Standard Error ^a	0,0751
95% Confidence interval ^b	0,588 to 0,849
95% Bootstrap CI ^c	0,576 to 0,862
z statistic	3,105
Significance level P (Area=0.5)	0,0019
^a DeLong et al., 1988	
^b Binomial exact	
^c BC _a bootstrap confidence interval (1000 iterations; random number seed: 978).	
Youden index	
Youden index J	0,4717
95% Confidence interval ^a	0,2249 to 0,6732
Associated criterion	>1,336
95% Confidence interval ^a	>0,757 to >1,702
Sensitivity	79,17
Specificity	68,00
^a BC _a bootstrap confidence interval (1000 iterations; random number seed: 978).	

Criterion values and coordinates of the ROC curve

Criterion	Sensitivity	95% CI	Specificity	95% CI	+LR	-LR
≥-0,019	100,00	85,8 - 100,0	0,00	0,0 - 13,7	1,00	
>-0,019	100,00	85,8 - 100,0	4,00	0,1 - 20,4	1,04	0,00
>-0,009	95,83	78,9 - 99,9	4,00	0,1 - 20,4	1,00	1,04
>-0,005	95,83	78,9 - 99,9	8,00	1,0 - 26,0	1,04	0,52
>-0,004	91,67	73,0 - 99,0	8,00	1,0 - 26,0	1,00	1,04
>0	91,67	73,0 - 99,0	12,00	2,5 - 31,2	1,04	0,69
>0,001	91,67	73,0 - 99,0	16,00	4,5 - 36,1	1,09	0,52
>0,005	91,67	73,0 - 99,0	20,00	6,8 - 40,7	1,15	0,42
>0,008	87,50	67,6 - 97,3	20,00	6,8 - 40,7	1,09	0,63

>0,011	87,50	67,6 - 97,3	24,00	9,4 - 45,1	1,15	0,52
>0,06	87,50	67,6 - 97,3	28,00	12,1 - 49,4	1,22	0,45
>0,072	87,50	67,6 - 97,3	32,00	14,9 - 53,5	1,29	0,39
>0,222	87,50	67,6 - 97,3	36,00	18,0 - 57,5	1,37	0,35
>0,224	87,50	67,6 - 97,3	40,00	21,1 - 61,3	1,46	0,31
>0,31	87,50	67,6 - 97,3	44,00	24,4 - 65,1	1,56	0,28
>0,422	87,50	67,6 - 97,3	48,00	27,8 - 68,7	1,68	0,26
>0,531	83,33	62,6 - 95,3	48,00	27,8 - 68,7	1,60	0,35
>0,651	83,33	62,6 - 95,3	52,00	31,3 - 72,2	1,74	0,32
>0,757	83,33	62,6 - 95,3	56,00	34,9 - 75,6	1,89	0,30
>0,795	83,33	62,6 - 95,3	60,00	38,7 - 78,9	2,08	0,28
>0,973	79,17	57,8 - 92,9	60,00	38,7 - 78,9	1,98	0,35
>1,226	79,17	57,8 - 92,9	64,00	42,5 - 82,0	2,20	0,33
>1,336	79,17	57,8 - 92,9	68,00	46,5 - 85,1	2,47	0,31
>1,391	75,00	53,3 - 90,2	68,00	46,5 - 85,1	2,34	0,37
>1,408	70,83	48,9 - 87,4	68,00	46,5 - 85,1	2,21	0,43
>1,475	66,67	44,7 - 84,4	68,00	46,5 - 85,1	2,08	0,49
>1,479	66,67	44,7 - 84,4	72,00	50,6 - 87,9	2,38	0,46
>1,523	62,50	40,6 - 81,2	72,00	50,6 - 87,9	2,23	0,52
>1,533	62,50	40,6 - 81,2	76,00	54,9 - 90,6	2,60	0,49
>1,554	58,33	36,6 - 77,9	76,00	54,9 - 90,6	2,43	0,55
>1,569	58,33	36,6 - 77,9	80,00	59,3 - 93,2	2,92	0,52
>1,597	54,17	32,8 - 74,4	80,00	59,3 - 93,2	2,71	0,57
>1,602	50,00	29,1 - 70,9	80,00	59,3 - 93,2	2,50	0,63
>1,608	45,83	25,6 - 67,2	80,00	59,3 - 93,2	2,29	0,68
>1,622	45,83	25,6 - 67,2	84,00	63,9 - 95,5	2,86	0,64
>1,643	41,67	22,1 - 63,4	84,00	63,9 - 95,5	2,60	0,69
>1,65	41,67	22,1 - 63,4	88,00	68,8 - 97,5	3,47	0,66
>1,683	37,50	18,8 - 59,4	88,00	68,8 - 97,5	3,12	0,71
>1,689	33,33	15,6 - 55,3	88,00	68,8 - 97,5	2,78	0,76
>1,699	33,33	15,6 - 55,3	92,00	74,0 - 99,0	4,17	0,72
>1,702	33,33	15,6 - 55,3	96,00	79,6 - 99,9	8,33	0,69
>1,711	29,17	12,6 - 51,1	96,00	79,6 - 99,9	7,29	0,74
>1,714	25,00	9,8 - 46,7	96,00	79,6 - 99,9	6,25	0,78
>1,744	20,83	7,1 - 42,2	96,00	79,6 - 99,9	5,21	0,82
>1,771	16,67	4,7 - 37,4	96,00	79,6 - 99,9	4,17	0,87
>1,787	12,50	2,7 - 32,4	96,00	79,6 - 99,9	3,12	0,91
>1,819	8,33	1,0 - 27,0	96,00	79,6 - 99,9	2,08	0,95
>1,866	4,17	0,1 - 21,1	96,00	79,6 - 99,9	1,04	1,00
>1,883	0,00	0,0 - 14,2	96,00	79,6 - 99,9	0,00	1,04
>2,181	0,00	0,0 - 14,2	100,00	86,3 - 100,0		1,00

+LR: razón de verosimilitud positiva; -LR: razón de verosimilitud negativa; 95% CI: intervalo de confianza del 95%.

11.7 TABLAS DE PUNTOS DE CORTE SEGÚN SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD FIJAS

11.7.1 IgE específica a extracto completo (ImmunoCAP) para el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante

ESPECIFICIDAD ESTIMADA A UNA SENSIBILIDAD FIJA			
Sensibilidad	Especificidad	IC 95%^a	Criterio
80,00	78,26	54,35 a 93,48	>6,638
90,00	67,39	47,83 a 86,96	>3,899
95,00	55,33	6,52 a 71,74	>2,018
97,50	52,17	4,35 a 71,74	>1,8315
99,00	10,87	0,19 a 52,71	>0,4849
SENSIBILIDAD ESTIMADA A UNA ESPECIFICIDAD FIJA			
Especificidad	Sensibilidad	CI 95%^a	Criterio
80,00	79,59	59,18 a 89,80	>7,078
90,00	65,31	42,86 a 81,63	>16,06
95,00	61,22	38,78 a 77,55	>21,02
97,50	59,18	0,00 a 0,00	>26,12
99,00	46,94	0,00 a 0,00	>40,148

^a BC_a bootstrap confidence interval (1000 iterations; random number seed: 978).

11.7.2 IgE específica frente al alérgeno recombinante Ani s 1 (ELISA, Trisakis-170) para el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante

ESPECIFICIDAD ESTIMADA A UNA SENSIBILIDAD FIJA			
Sensibilidad	Especificidad	IC 95%^a	Criterio
80,00	43,48	8,26 a 69,57	>0,0594
90,00	6,30	0,00 a 41,30	>-0,0001
95,00	0,00	0,00 a 9,67	>-0,0072
97,50	0,00	0,00 a 6,54	>-0,01675
99,00	0,00	0,00 a 0,00	>-0,019
SENSIBILIDAD ESTIMADA A UNA ESPECIFICIDAD FIJA			
Especificidad	Sensibilidad	CI 95%^a	Criterio
80,00	55,51	38,80 a 71,43	>1,3294
90,00	38,78	6,12 a 63,27	>1,5718
95,00	14,29	2,04 a 59,18	>1,7342
97,50	8,16	0,00 a 0,00	>1,80995
99,00	2,04	0,00 a 0,00	>1,94186

^a BC_a bootstrap confidence interval (1000 iterations; random number seed: 978).

**11.7.3 IgE específica frente al alérgeno recombinante Ani s 7 (ELISA, Trisakis-170)
para el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante**

ESPECIFICIDAD ESTIMADA A UNA SENSIBILIDAD FIJA			
Sensibilidad	Especificidad	IC 95%^a	Criterio
80,00	52,17	23,80 a 71,74	>0,6234
90,00	17,39	4,35 a 47,83	>0,1152
95,00	15,22	4,35 a 39,23	>0,0548
97,50	10,87	0,045 a 23,91	>0,03335
99,00	4,35	0,0043 a 13,04	>0,00092
SENSIBILIDAD ESTIMADA A UNA ESPECIFICIDAD FIJA			
Especificidad	Sensibilidad	CI 95%^a	Criterio
80,00	38,78	18,37 a 65,31	>1,4508
90,00	26,53	8,16 a 48,98	>1,6402
95,00	14,29	0,00 a 32,65	>1,7294
97,50	12,24	0,00 a 0,00	>1,75685
99,00	0,00	0,00 a 0,00	>1,9475

^a BC_a bootstrap confidence interval (1000 iterations; random number seed: 978).

11.7.4 IgE específica a extracto completo (ImmunoCAP) en el diagnóstico de anafilaxia

IgE-Anisakis

ESPECIFICIDAD ESTIMADA A UNA SENSIBILIDAD FIJA			
Sensibilidad	Especificidad	IC 95%^a	Criterio
80,00	56,00	16,00 a 88,00	>19,78
90,00	28,00	0,16 a 64,00	>5,554
95,00	24,00	4,00 a 72,00	>4,488
97,50	8,00	0,00 a 24,00	>2
99,00	8,00	0,00 a 24,00	>1,964
SENSIBILIDAD ESTIMADA A UNA ESPECIFICIDAD FIJA			
Especificidad	Sensibilidad	CI 95%^a	Criterio
80,00	66,67	33,33 a 87,50	>44,8
90,00	37,50	0,00 a 75,00	>88,75
95,00	8,33	0,00 a 58,33	>503,75
97,50	0,00	0,00 a 0,00	>3133,75
99,00	0,00	0,00 a 0,00	>4697,5

^a BC_a bootstrap confidence interval (1000 iterations; random number seed: 978).

11.7.5 IgE específica frente al alérgeno Ani s 1 (ELISA, Trisakis-170) en el diagnóstico de anafilaxia

IgE-Ani s 1

ESPECIFICIDAD ESTIMADA A UNA SENSIBILIDAD FIJA			
Sensibilidad	Especificidad	IC 95%^a	Criterio
80,00	60,00	4,03 a 84,00	>0,9374
90,00	20,00	0,00 a 72,00	>0,0062
95,00	8,00	0,00 a 56,00	>-0,0048
97,50	4,00	0,00 a 23,88	>-0,013
99,00	4,00	0,00 a 23,88	>-0,0166
SENSIBILIDAD ESTIMADA A UNA ESPECIFICIDAD FIJA			
Especificidad	Sensibilidad	CI 95%^a	Criterio
80,00	58,33	29,17 a 91,67	>1,569
90,00	33,33	0,00 a 58,33	>1,694
95,00	33,33	0,00 a 75,00	>1,70125
97,50	0,00	0,00 a 0,00	>1,99475
99,00	0,00	0,00 a 0,00	>2,1065

^a BC_a bootstrap confidence interval (1000 iterations; random number seed: 978).

11.8 PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

11.8.1 Artículos originales

- **de Las Vecillas, L.**, Muñoz-Cacho, P., López-Hoyos, M., Monttecciani, V., Martínez-Sernández, V., Ubeira, F. M., & Rodríguez-Fernández, F. (2020). Analysis of Ani s 7 and Ani s 1 allergens as biomarkers of sensitization and allergy severity in human anisakiasis. *Scientific Reports*, 10(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67786-w>

Cuartil 1 / IF 3.998

11.8.2 Comunicaciones en congresos internacionales

- **De las Vecillas Sánchez, L.** at al. "*Anisakis Simplex* Sensitization and Diagnosis Tests: Distinguishing Between Symptomatic and Asymptomatic Sensitization." International Symposium on Molecular Allergology (ISMA) 2019, European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI).

11.8.3 Comunicaciones en congresos nacionales

- **De Las Vecillas Sánchez L.**, et al. Características clínicas, demográficas y hábitos de consumo relacionados con la alergia al Anisakis. XXXI Congreso Nacional de la SEAIC.
- **De las Vecillas L.** et al. Ani S 7 Como Biomarcador De Una Relación Interesante. 32º Congreso Virtual de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica 2020.

11.9 ABREVIATURAS

Ag: antígenos del *Anisakis simplex*

Anisakis: *Anisakis simplex*

AUC: area under the curve; área bajo la curva

BSTC: Banco de sangre y tejidos de Cantabria

COR: característica operativa del receptor

CRD: component resolved diagnosis (diagnóstico por componentes moleculares)

CU+: pacientes con urticaria crónica sensibilizados al *Anisakis simplex*.

DPT: *Dermatophagoides pteronyssinus*

E: especificidad

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas)

ESP: enzimas de secreción-excreción

FAO: Food and Agriculture Organization (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura)

FcεRI: receptor de alta afinidad para la IgE

GA: anisakiasis gástrica

GAA: anisakiasis gastroalérgica

HUMV: Hospital Universitario Marqués de Valdecilla

IgE: inmunoglobulina E

IgE-Ani s 1: IgE específica frente al alérgeno recombinante Ani s 1

IgE-Ani s 7: IgE específica frente al alérgeno recombinante Ani s 7

IgE-*Anisakis*: IgE específica frente al extracto completo de *Anisakis simplex*

IQ₂₅₋₇₅: rango intercuartílico 25-75

IU/mL: international units per mililiter (unidades internacionales por mililitro)

kUA/L: kilounits of allergen-specific IgE per liter (Kilo unidades de IgE específica frente al alérgeno por litro)

n: número de pacientes

NA: no aplicable

mm: milímetros

OMS: Organización Mundial de la Salud

OD: optical density (densidad óptica)

S: sensibilidad

+LR: positive likelihood ratio (razón de verosimilitud positiva)

-LR: negative likelihood ratio (razón de verosimilitud negativa)

+PV: positive predictive value (valor predictivo positivo)

-PV: negative predictive value (valor predictivo negativo)

95% CI: intervalo de confianza del 95%

SPT+: positive skin prick test (pruebas cutánea positiva)

Tregs: células T reguladoras

11.10 ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Prevalencia de larvas de <i>Anisakis simplex</i> en diferentes especies de peces analizadas según su origen geográfico	19
Tabla 2. Técnicas de cocinado y productos relacionados con la infestación humana por <i>Anisakis simplex</i>	23
Tabla 3. Antígenos caracterizados del <i>Anisakis simplex</i>	35
Tabla 4. Datos demográficos de los donantes del banco de sangre.....	71
Tabla 5. Características clínicas de los donantes de sangre	72
Tabla 6. Número de donantes positivos para la IgE- <i>Anisakis</i> en función de sus síntomas	72
Tabla 7. Resultados de IgE total, IgE- <i>Anisakis</i> y prueba cutánea con extracto completo en el grupo de donantes del banco de sangre	74
Tabla 8. Donantes sensibilizados asintomáticos con valores positivos de IgE-Ani s 1 e IgE-Ani s 7 (Trisakis-170).....	74
Tabla 9. Resultados de IgE específica a <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> y gamba en donantes sensibilizados asintomáticos	75
Tabla 10. Características de hábitos de consumo de pescado (donantes del banco de sangre)	76
Tabla 11. Datos demográficos de los pacientes alérgicos	77
Tabla 12. Frecuencia de las especies implicadas en las reacciones alérgicas	79
Tabla 13. Características clínicas de las reacciones iniciales en pacientes alérgicos.....	80
Tabla 14. Resultados de IgE total, IgE- <i>Anisakis</i> y prueba cutánea con extracto completo en pacientes alérgicos	80
Tabla 15. Pacientes alérgicos con valores positivos de IgE-Ani s 1 e IgE-Ani s 7 (Trisakis-170).....	81

Tabla 16. Características de hábitos de consumo de pescado (pacientes alérgicos)	82
Tabla 17. Comparación de características demográficas entre donantes no sensibilizados y sensibilizados asintomáticos.....	83
Tabla 18. Comparación de hábitos de consumo de pescado entre donantes no sensibilizados y sensibilizados	84
Tabla 19. Comparación de características demográficas entre pacientes alérgicos y donantes sensibilizados asintomáticos	85
Tabla 20. Comparación de hábitos de consumo de pescado entre pacientes alérgicos y donantes sensibilizados asintomáticos	86
Tabla 21. Comparación de resultados de pruebas diagnósticas <i>in vitro</i> entre pacientes alérgicos y donantes sensibilizados asintomáticos	87
Tabla 22. Comparación de datos de Curva COR para IgE- <i>Anisakis</i> (InmunoCAP), IgE-Ani s 1 e IgE-Ani s 7 (Trisakis-170) en el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante.....	90
Tabla 23. Índice de Youden para los valores de IgE- <i>Anisakis</i> (InmunoCAP), IgE-Ani s 1 e IgE-Ani s 7 (Trisakis-170) en el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante	91
Tabla 24. Coeficiente de correlación de Spearman (Rho) entre resultados de las pruebas diagnósticas y tiempo entre la reacción y la extracción analítica, en pacientes alérgicos	92
Tabla 25. Coeficiente de correlación de Spearman (Rho) entre pruebas diagnósticas, atopía y sensibilización a <i>Dermatophagoides Pteronyssinus</i> y gamba, en los donantes sensibilizados asintomáticos.....	93
Tabla 26. Resultados positivos de IgE-Ani s 1, IgE-Ani s 7 en función de los síntomas de la reacción alérgica	94

Tabla 27. Comparación resultados en función de los síntomas presentados por los pacientes alérgicos durante la reacción adversa	95
Tabla 28. Comparación de resultados en función de la gravedad de la reacción alérgica	97
Tabla 29. Comparación de resultados en función de haber sufrido una reacción anafiláctica o leve-moderad.....	97
Tabla 30. Comparación de valores positivos de IgE-Ani s 1 (Trisakis-170) en función de haber sufrido una reacción anafiláctica	98
Tabla 31. Valores de sensibilidad y especificidad para la IgE-Ani s 1 (Trisakis-170) en el diagnóstico de una reacción anafiláctica por <i>Anisakis simplex</i>	98
Tabla 32. Comparación de datos de Curva COR para IgE- <i>Anisakis</i> (InmunoCAP) e IgE-Ani s 1 (Trisakis-170) en anafilaxia	99
Tabla 33. Índice de Youden para los valores de IgE- <i>Anisakis</i> (InmunoCAP) e IgE-Ani s 1 (Trisakis-170) en anafilaxia.....	100
Tabla 34. Datos demográficos de los pacientes con dispepsia.....	103
Tabla 35. Datos demográficos, atopia, hallazgos endoscópicos y detección de <i>Helicobacter pylori</i> en los pacientes del grupo de dispepsia.....	105
Tabla 36. Valores positivos en pacientes con dispepsia para IgE total, IgE- <i>Anisakis</i> y prueba cutánea	106
Tabla 37. Resultados de IgE total, IgE- <i>Anisakis</i> y prueba cutánea con extracto completo en pacientes con dispepsia.....	106
Tabla 38. Valores positivos de IgE-Ani s 1 e IgE-Ani s 7 (Trisakis-170) en pacientes con dispepsia	107
Tabla 39. Resultados de IgE total, IgE- <i>Anisakis</i> , IgE-Ani s 1 e IgE-Ani s 7 (Trisakis-170) en pacientes con dispepsia.....	107

Tabla 40. Resultados de las pruebas analíticas de los pacientes del grupo de dispepsia	107
Tabla 41. Comparación de resultados de pruebas diagnósticas entre pacientes con dispepsia y pacientes alérgicos	108
Tabla 42. Comparación de resultados de pruebas diagnósticas entre pacientes con dispepsia y donantes sensibilizados asintomáticos.....	108
Tabla 43. Comparación de resultados de pruebas diagnósticas <i>in vitro</i> entre pacientes con dispepsia según hallazgos endoscópicos y <i>Helicobacter pylori</i>	109
Tabla 44. Características de hábitos de consumo de pescado en el grupo de pacientes con dispepsia	111

11.11 ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución geográfica de las diferentes especies de <i>Anisakis</i>	15
Figura 2. Ciclo vital del <i>Anisakis simplex</i>	17
Figura 3. Especies de pescado ordenados por abundancia media (helmintos / huésped) de larvas de <i>Anisakis simplex</i> encontradas en su musculatura	20
Figura 4. Esquema de la respuesta inmunitaria que se genera tras el contacto con larvas de <i>Anisakis simplex</i>	27
Figura 5. Algoritmo de clasificación clínica del grupo de donantes.	56
Figura 6. Algoritmo de los resultados en el grupo de donantes	73
Figura 7. Número de pacientes alérgicos distribuidos según el tiempo transcurrido entre la ingesta de pescado y el inicio de los síntomas alérgicos	78
Figura 8. Gravedad de la reacción en pacientes alérgicos	78
Figura 9. Porcentaje de pacientes alérgicos y de donantes sensibilizados asintomáticos distribuidos por clases de IgE- <i>Anisakis</i> (ImmunoCAP)	89
Figura 10. Curva COR para IgE- <i>Anisakis</i> (ImmunoCAP) IgE-Ani s 1 e IgE-Ani s 7 (Trisakis-170) en el diagnóstico de sensibilización clínicamente relevante.....	90
Figura 11. Valores de IgE específica a extracto completo de <i>Anisakis simplex</i> y a Ani s 1 en función de la gravedad de la reacción alérgica.	96
Figura 12. Curva COR para IgE- <i>Anisakis</i> (ImmunoCAP) e IgE-Ani s 1 (Trisakis-170) en anafilaxia	99
Figura 13. Valores de IgE específica frente al alérgeno recombinantes Ani s 7 en pacientes con dispepsia según hallazgos endoscópicos y <i>Helicobacter pylori</i>	110
Figura 14. Propuesta de algoritmo pronóstico en el desarrollo de alergia al <i>Anisakis simplex</i> en la población general asintomática sensibilizada.....	127