



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

**Programa de Doctorat en Medicina
Departament de Medicina**

TESIS DOCTORAL

**Implicación de ascáridos no
diagnosticables por estudio
coproparasitológico en urticarias de
origen desconocido**

**Marta Viñas Domingo
para optar al grado de Doctor**

DIRECTORES

**Profesor Jorge Martínez Quesada
Profesor Miquel Vilardell Tarrés**

Barcelona, 2014

DON MIQUEL VILARDELL TARRÉS, Catedrático de Medicina Interna de la Universidad Autónoma de Barcelona y **DON JORGE MARTÍNEZ QUESADA**, Profesor Titular de Parasitología de la Universidad del País Vasco.

CERTIFICAN que:

Doña **MARTA VIÑAS DOMINGO**, ha realizado su tesis doctoral con título “**IMPLICACIÓN DE ASCÁRIDOS NO DIAGNOSTICABLES POR ESTUDIO COPROPARASITOLÓGICO EN URTICARIAS DE ORIGEN DESCONOCIDO**” bajo nuestra dirección.

La mencionada tesis doctoral, reúne las condiciones necesarias para ser presentada para optar al título de Doctor por la Universidad Autónoma de Barcelona en el Programa de Doctorado del Departamento de Medicina, habiendo sido revisada y estando conforme con su presentación para ser juzgada.

Para que así conste y surta los efectos oportunos, firmamos el presente certificado,



Dr. Miquel Vilardell Tarrés



Dr. Jorge Martínez Quesada

Barcelona, Julio de 2014

A mi marido, Alfons y a mis hijos, Pol y Blanca

AGRADECIMIENTOS

La elaboración de esta tesis la debo a la confianza, insistencia y apoyo incondicional de mi marido Alfons, quien siempre está a mi lado dispuesto a ayudarme y me creyó lo suficientemente capaz de realizarla.

A mis hijos Pol y Blanca, a los cuales debo agradecer las horas que me han permitido estar en el ordenador haciendo mis deberes en lugar de hacer otras actividades con ellos.

Al Profesor Jorge Martínez, por su colaboración desinteresada y dedicación, sin la ayuda del cual esta tesis no hubiera llegado a tan buen nivel.

A Esther, Sara y Laura por haberme abierto las puertas de su casa.

Al Profesor Miquel Vilardell por haber compartido la dirección de esta tesis; por sus siempre sabias y acertadas recomendaciones.

A la Dra. Idoia Postigo por su imprescindible ayuda en todo el durísimo trabajo de laboratorio tanto práctico, como de coordinación y a sus brillantes aclaraciones y aportaciones.

A Toño y Maialen, quienes me enseñaron el funcionamiento de las técnicas de laboratorio tratándome como a un miembro más de su equipo. Gracias por vuestra ayuda y esfuerzo, sin el cual mucha parte de esta tesis no hubiera sido posible.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Marcel Ibero, mi jefe, por permitirme realizar el estudio en nuestra Unidad de Terrassa y a mis compañeras la Dra. Nora Hernández y la Dra. M^a José Castillo por su colaboración.

A las enfermeras de la Unidad: Toni Alegre, Marta Armengol y M^a José Domingo cuya calidad humana hace que sea muy fácil el trabajar en esta época de cambios y presiones asistenciales.

A mis padres gracias a los cuales soy la persona en la que me he convertido, por haberme dado la posibilidad de llegar a ser el médico que siempre había soñado ser y a mi hermana por estar siempre ahí.

A todos aquellos con los que me rodeo día a día, mil gracias por la gran paciencia que habéis tenido a lo largo del duro proceso de elaboración de este trabajo.

ÍNDICE

ÍNDICE

LISTADO DE ABREVIATURAS	1
INTRODUCCIÓN	
1. DESCRIPCIÓN DE LOS PARÁSITOS	5
1.1. <i>Toxocara canis</i>	5
1.2. <i>Anisakis simplex</i>	12
2. ANTÍGENOS DE <i>Toxocara canis</i> Y DE <i>Anisakis simplex</i>	16
2.1. Antígenos de <i>Toxocara canis</i>	16
2.2. Antígenos de <i>Anisakis simplex</i>	18
3. DIAGNÓSTICO	21
4. HIPERSENSIBILIDAD, PARÁSITOS Y URTICARIA	22
OBJETIVOS	31
MATERIAL Y MÉTODOS	
1. SUJETOS DE ESTUDIO	35
1.1. Población de sujetos alérgicos.....	35
1.2. Población general o control	35
2. METODOLOGÍA	36
2.1. Cuestionarios clínicos	36
2.2. Estudio alergológico	37
2.3. Clasificación de la población	38
2.4. Estudio coproparasitológico	38
2.5. Estudio inmunológico específico para <i>Toxocara</i> y <i>Anisakis</i>	39
3. PROTOCOLOS	40
3.1. Protocolo EIA <i>Toxocara</i> . Medida de la IgG	40
3.2. Protocolo EIA <i>Toxocara</i> . Medida de la IgE	41
3.3. Protocolo inmunotransferencia IgG <i>Toxocara</i>	42
3.4. Protocolo inmunotransferencia IgE <i>Toxocara</i>	43
3.5. Protocolo EIA: Cuantificación de IgG específica frente a <i>Ani s 1</i> y de IgG específica frente a <i>Ani s 7</i>	44

ÍNDICE

3.6. Protocolo EIA. Cuantificación de IgE específica frente a Anisakis 1 y de IgE específica frente a Anisakis 7	45
4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	46

RESULTADOS

1. POBLACIÓN GENERAL (DONANTES SANOS)	49
2. POBLACIÓN ALÉRGICA	49
3. DATOS GENERALES DE FILIACIÓN	49
3.1. Distribución por sexo	49
3.2. Origen de la población y relación con <i>Toxocara canis</i>	50
3.3. Hábitat de la población y relación con <i>Toxocara canis</i>	51
3.4. Hábitos de geofagia	51
3.5. Contacto con animales y relación con <i>Toxocara canis</i>	52
4. PARÁMETROS ANALÍTICOS EN LA POBLACIÓN ATÓPICA	54
4.1. Proteína catiónica del eosinófilo (ECP)	54
4.2. Eosinofilia periférica	55
4.3. IgE total	55
4.4. IgE específica	55
4.5. Parásitos en heces	56
5. RESUMEN GRÁFICO DE SENSIBILIZACIÓN	56
5.1. POBLACIÓN GENERAL	56
5.2. POBLACIÓN ALÉRGICA	57
6. COMPARACIÓN DE LOS GRUPOS DE POBLACIONES ESTUDIADAS EN BASE A LA PREVALENCIA	60
6.1. IgG específica frente a <i>Toxocara</i>	60
6.2. IgE específica frente a <i>Toxocara</i>	61
6.3. IgG específica frente a <i>Anisakis</i>	62
6.4. IgE específica frente a <i>Anisakis</i>	63
6.5. IgE específica frente a Anisakis 1	64
6.6. IgG específica frente a Anisakis 1	65
6.7. IgE específica frente a Anisakis 1	66
6.8. IgG específica frente a Anisakis 1	67

ÍNDICE

6.9. IgG específica frente a tropomiosina	69
7. RESULTADOS INMUNOTRANSFERENCIA	70
Sueros de sujetos seropositivos por IgE e IgG a <i>Toxocara</i>	70
Sueros de sujetos seropositivos por IgE a <i>Toxocara</i>	71
Sueros de sujetos seropositivos por IgG a <i>Toxocara</i>	72
Representación esquemática del antígenograma y del alergograma	73
DISCUSIÓN	77
CONCLUSIONES	95
BIBLIOGRAFÍA	99
ANEXO I	
Tabla 24. Grupo de pacientes con alergia y con urticaria	115
Tabla 25. Grupo de pacientes sin alergia con urticaria	116
Tabla 26. Grupo de pacientes con alergia y sin urticaria	117
Tabla 27. Grupo de pacientes sin alergia y sin urticaria	118
Tabla 28. Grupo de pacientes con urticaria aguda o crónica	119
Tabla 29. Grupo de pacientes con urticaria aguda	120
Tabla 30. Grupo de pacientes con urticaria crónica	121
Tabla 31. Grupo de pacientes con alergia y urticaria aguda	122
Tabla 32. Grupo de pacientes con alergia y urticaria crónica	123
Tabla 33. Grupo de pacientes sin alergia y con urticaria aguda	124
Tabla 34. Grupo de pacientes sin alergia y con urticaria crónica	125
ANEXO II	
Certificado del Comité de Ética del CST	129

ABREVIATURAS

- ABA-1:** grupo de proteínas alergénicas del nematodo *Ascaris suum*
- AcUag:** Alérgicos con urticaria aguda
- AcUcr:** Alérgicos con urticaria crónica
- AsU:** Alérgicos sin urticaria
- AU:** Alérgicos con urticaria
- BCIP:** sal p-toluidina de 5-bromo-4-cloro-3'-indolilfosfato
- Ca⁺²:** calcio
- cc:** centímetros cúbicos
- ECL:** "Emitter-coupled logic"
- ECP:** proteína catiónica del eosinófilo
- E-SL2:** extracto de los productos de excreción-secreción de las larvas infectantes L2 de *T. canis*
- FEIA:** fluorenzimoinmunoensayo
- FITC:** isocianato de fluoresceína
- g:** gramos
- GAA:** Anisakiosis gastroalérgica
- HRP:** peroxidasa de rábano
- IgE:** inmunoglobulina E
- kDa:** Kilodaltons
- L2:** segundo estadio larvario infectante de *T. canis*
- LMO:** síndrome de larva migrans ocular
- LMV:** síndrome de larva migrans visceral
- µm:** micrómetros
- M:** molaridad
- ml:** mililitros
- mm:** milímetros
- nAcU:** No alérgicos con urticaria
- NAcUag:** No alérgicos con urticaria aguda
- NAcUcr:** No alérgicos con urticaria crónica
- nAsU:** No alérgicos sin urticaria (población general o grupo control)
- NBT:** Nitroazul de tetrazolio
- °C:** grados centígrados
- OPD:** Orto-fenilendiamina dihidrocloruro

ABREVIATURAS

PM: peso molecular

PTN: procedimiento normalizado de trabajo

PVDF: Fluoruro de polivilideno

r. p. m: revoluciones por minuto

SAF: acetato sódico- ácido acético- solución formalinada con tritón X-100

SNC: sistema nervioso central

SNP: sistema nervioso periférico

TBA-1: grupo de proteínas alergénicas de nematodo de *T. canis*

TMB: tetrametilbenzidina

Uag: Urticaria aguda

Uag+Ucr: Urticaria aguda más urticaria crónica (urticarias totales)

Ucr: Urticaria crónica

INTRODUCCIÓN

1. DESCRIPCIÓN DE LOS PARÁSITOS.

1.1. *Toxocara canis*.

Toxocara es un helminto nematodo perteneciente a la familia Ascarididae, que parasita a diferentes especies, pudiendo infectar a un amplio rango de mamíferos, incluido el hombre [1, 2].

La clasificación taxonómica de *Toxocara* spp. se encuentra descrita a continuación siguiendo las directrices del *Taxonomicon* [3]. Esta clasificación, se ajusta bastante a la aceptada actualmente por la mayoría de estudiosos de la parasitología.

Reino: Animalia; **Subreino:** Eumetazoa; **Dominio:** Eukaryota; **Rama:** Protostomia; **Grado:** Bilateria; **Infrareino:** Ecdysozoa; **Superphylum:** Aschelminthes; **Phylum:** Nematoda; **Clase:** Secernentea; **Subclase:** Rhabditia; **Orden:** Ascaridida; **Suborden:** Ascaridina; **Superfamilia:** Ascaridoidea; **Familia:** Toxocaridae; **Género:** *Toxocara*.

En 1970 [4], se describieron once especies de *Toxocara*. Sin embargo, en la actualidad, el National Center for Biotechnology Information (NCBI) recoge únicamente seis especies [5], de las cuáles sólo dos: *T. canis* y *T. cati* han sido reconocidas como agentes causantes de patología en el hombre [6].

Los adultos de *T. canis* parasitan la parte superior del tracto intestinal de sus hospedadores definitivos, los cánidos. Son relativamente grandes, de color blanquecino y con una cutícula que posee finas estriaciones transversales (Figura 1).

INTRODUCCIÓN



(<http://cal.vet.upenn.edu>)

Figura 1. *Toxocara canis* adulto.

Las hembras de *T. canis* tienen una longitud entre 6 a 18 cm y los machos entre 4 a 10 cm. En la parte anterior destaca la cavidad oral formada por tres labios. Lateralmente se pueden percibir dos aletas cervicales que miden 2,5 x 0,2 mm con forma de punta de lanza, importantes para su identificación taxonómica y diferenciación con otras especies y géneros. Poseen un ventrículo posterior en la base del esófago y carecen de ciegos intestinales. El extremo posterior es romo en las hembras y digitiforme en los machos, con dos espículas desarrolladas.

Los huevos de *T. canis* (Figura 2) son subesféricos, oscuros, de color marrón, de superficie irregular y de un tamaño de 75–90 μm . Se distingue una membrana externa gruesa y rugosa y una membrana interna lisa, no siempre visible. En el interior, se aprecia que el embrión ocupa casi la totalidad del espacio interno. Estos huevos son eliminados junto con las heces del hospedador definitivo al medio externo, donde embrionan y pueden permanecer viables hasta más de un año [1].



(<http://facmed.unam.mx>)

Figura 2. Huevo de *T. Canis*.

INTRODUCCIÓN

Al igual que otros nematodos *T. canis* atraviesa varios estadios de desarrollo desde huevo hasta adulto. En concreto pasa por cuatro estadios larvarios: L1, L2, L3 y L4 siendo el segundo estadio larvario o L2 la fase infectante, que permanece dentro del huevo, después de la primera muda, hasta su ingestión por un futuro hospedador. La eclosión de la L2 se produce en el estómago del hospedador debido a la acción química de los jugos gástricos (Figura 3).



(<http://insht.es>)

Figura 3. Eclosión de la larva L2.

Las larvas L2 ya eclosionadas miden 400 μm de largo por 20 μm de ancho.

Ciclo biológico.

El ciclo biológico de este parásito en el hospedador definitivo (cánidos) (Figura 4), se inicia cuando las hembras fecundadas de *T. canis* depositan huevos sin segmentar en el intestino delgado del perro y éstos son eliminados con las heces al medio externo. Las hembras adultas pueden llegar a producir 200.000 huevos al día. Estos huevos no son todavía infectivos y requieren un periodo de incubación en el suelo. Bajo condiciones óptimas de humedad, temperatura y tensión de oxígeno, los huevos embrionan llegando en 2-5 semanas al estadio de larva infectante (L2), pudiendo permanecer viables durante largos periodos de tiempo, hasta ser ingeridos por un nuevo hospedador [1].

Una vez ingeridos, los huevos embrionados pasan al estómago, donde la cubierta externa se rompe debido a la acción de los ácidos gástricos. Las larvas infectantes eclosionan penetrando en la mucosa intestinal y pasan a la

INTRODUCCIÓN

circulación sanguínea para iniciar una larga migración intraorgánica. A las 24-48 horas llegan al hígado por vía portal, continúan hacia los pulmones pasando por las venas hepática y cava posterior hasta llegar a la cavidad derecha del corazón y la arteria pulmonar. Durante esta migración algunas larvas quedan retenidas en los tejidos a causa de reacciones tisulares inflamatorias.

Tras llegar a los pulmones, pueden seguir dos rutas de migración en función de la edad del perro parasitado. En cachorros menores de seis semanas se produce una migración traqueodigestiva. Las L2 atraviesan los alveolos y ascienden por el árbol bronquial para ser deglutidas con las secreciones traqueobronquiales convertidas en larvas de tercer estadio (L3) y así llegar al aparato digestivo. El desarrollo de las larvas continúa en el estómago y finaliza en el intestino, realizando una nueva muda y alcanzando el estadio adulto (L4) a las 3-5 semanas.

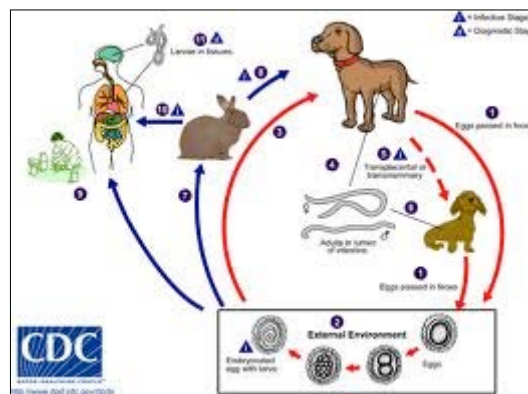
En perros de más de seis semanas, es más frecuente una migración somática. En este caso, las L2 no pasan a la luz alveolar sino que a través del torrente sanguíneo son distribuidas por el organismo invadiendo diferentes órganos como los pulmones, hígado, riñones, útero, glándulas mamarias, etc. En este punto, las larvas pueden quedar retenidas en los tejidos durante meses e incluso años sin ningún desarrollo. Este fenómeno es conocido como hipobiosis [7]. Estas larvas en estado hipobiótico se pueden reactivar en el tercer trimestre del embarazo de la hembra hospedadora. Pueden migrar hacia la placenta produciéndose la infección trasplacentar de los cachorros gestantes y también hacia las glándulas mamarias pasando al calostro dando lugar a una infección postnatal [8]. Esto supone que las hembras son el principal reservorio de infección de *T. canis* al reactivarse las larvas con cada nueva camada, por eso, la mayoría de los perros recién nacidos están parasitados por *T. canis* [9].

La capacidad de supervivencia de las larvas L2 de *T. canis* se pone de manifiesto al existir casos en los que se han encontrado larvas infectantes en tejidos del hospedador definitivo hasta nueve años después de una infección [10, 11].

INTRODUCCIÓN

En cultivos *in vitro*, las larvas L2 se mantienen viables durante un máximo de 18 meses. Si bien en este periodo no hay desarrollo morfológico, sí hay una elevada actividad física y metabólica que depende de un aporte regular de glucosa y aminoácidos [9].

T. canis sólo alcanza el estadio adulto en el hospedador definitivo, pero existe un amplio rango de mamíferos, incluido el hombre, susceptibles de ser infectados por la ingestión de huevos embrionados.

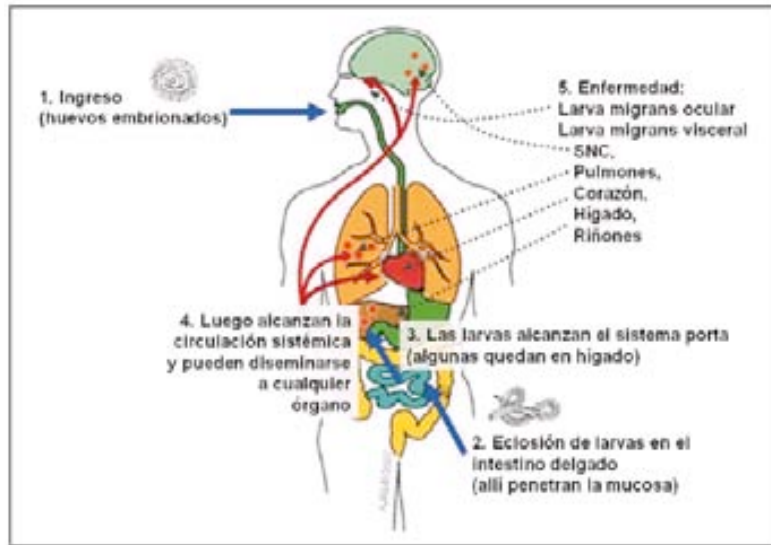


www.cdc.gov/parasites/toxocariasis/biology.htmldpd.cdc.gov

Figura 4. Esquema del ciclo biológico en el hospedador definitivo.

En el hombre (Figura 5), el ciclo comienza con la ingestión accidental de huevos que se pueden encontrar en el suelo de los parques públicos, en vegetales contaminados por heces de perro, o puede adquirirse por la ingestión de carne mal cocinada de hospedadores paraténicos como pollo [6], conejo [12], pato [13] y cordero [14]. Como consecuencia, se produce la migración somática que da lugar al desarrollo del Síndrome de Larva Migrans [15].

INTRODUCCIÓN



Manson P., Cook G. C. & Zumla A. (2003). Manson. S. Tropical Diseases. 21st Edn. Saunders, London, UK.

Figura 5. Esquema del ciclo biológico de *T. canis* en el hombre (hospedador accidental).

Manifestaciones clínicas.

Tradicionalmente se describen dos formas de toxocarosis humana dependiendo de la localización de las larvas en los tejidos del hospedador que se denominan Síndrome de Larva Migrans Ocular (LMO) y Síndrome de Larva Migrans Visceral (LMV).

Síndrome de Larva Migrans Ocular (LMO) [16].

Los pacientes suelen ser niños y adultos jóvenes que presentan una pérdida de visión, acompañada a veces por estrabismo de días o semanas de duración. Al examinar el fondo de ojo se pueden observar: endoftalmitis granulomatosa, uveítis y granulomas retinianos, papilitis o masas inflamatorias en el vítreo periférico. La consecuencia más grave de la infección es la invasión de la retina que puede acabar en ceguera.

La infección ocular puede ser también subclínica y solamente detectada en un control rutinario oftalmológico. En estos pacientes no se suele encontrar eosinofilia periférica.

INTRODUCCIÓN

Síndrome de Larva Migrans Visceral (LMV) [17].

Los pacientes suelen ser niños entre 2 y 7 años con historia previa de geofagia y contacto estrecho con mascotas. Los síntomas asociados a la migración hepática y pulmonar de las larvas son: dolor abdominal, pérdida de apetito, fiebre, tos, asma y hepatomegalia con una marcada eosinofilia, leucocitosis e hipergammaglobulinemia. La localización e intensidad de los síntomas depende de la cantidad de larvas, el establecimiento de las mismas y de la respuesta inmune del hospedador. Los casos de LMV con clínica grave son poco comunes y las posibles consecuencias de una prolongada eosinofilia son la fibrosis pulmonar [18] y la miocarditis eosinofílica [19].

En las últimas décadas se han descrito nuevas formas clínicas de toxocarosis entre las que destacan:

Toxocarosis común [20].

Se presenta con astenia crónica asociada con desórdenes digestivos y manifestaciones alérgicas (hipereosinofilia moderada o elevación de la IgE total). Algunas veces estos síntomas pueden estar acompañados de manifestaciones dermatológicas como prurito, eczema y urticaria.

Toxocarosis subclínica o encubierta [21].

En este caso las manifestaciones clínicas son poco específicas y de poca gravedad como: fiebre, anorexia, tos, dolor abdominal, cefalea, insomnio, vómitos, letargia, trastornos del comportamiento, faringitis, neumonía, linfadenitis cervical y hepatomegalia. No suele haber eosinofilia marcada pero sí un elevado título de anticuerpos anti-*Toxocara*. Es la forma más frecuente de toxocarosis humana a pesar de que la mayoría de veces se suele quedar sin diagnosticar [15].

Toxocarosis neurológica [22].

Puede afectar tanto al Sistema Nervioso Central (SNC) como al Sistema Nervioso Periférico (SNP). Entre las manifestaciones neurológicas en el SNC destacan la meningitis, encefalitis y mielitis eosinofílicas, vasculitis cerebral,

neuritis óptica y epilepsia. Sólo hay 50 casos en los que se ha podido relacionar la toxocarosis con el SNC y se ha visto que no discrimina ni por edad ni por sexo.

En cuanto al SNP las manifestaciones son raras y comprenden radiculitis, afección de los nervios craneales y afección del músculo esquelético [23].

De cualquier manera, es interesante destacar que las formas más usuales de infestación por *Toxocara canis* no se expresan clínicamente. Los estudios seroepidemiológicos efectuados demuestran altas tasas de seropositividad con escasos individuos que presentan síntomas [15, 21].

1.2. *Anisakis simplex*.

Anisakis simplex es un nematodo que parasita el tubo digestivo de mamíferos marinos mayoritariamente cetáceos (ballenas, orcas, delfines, etc) y en menor medida en pinnípedos (focas, leones marinos, morsas, etc). Es un helminto perteneciente al orden Ascaridida, superfamilia Ascaridoidea y a la familia *Anisakidae*. Dentro de los diversos géneros de esta familia los más relevantes son *Anisakis* y *Pseudoterranova* que presentan una amplia distribución en los cinco continentes.

Las especies de anisákidos responsables de la parasitación humana son *Anisakis simplex* y en menor medida, *Pseudoterranova decipiens*, también conocido como gusano del bacalao. Los humanos somos un hospedador accidental ya que en el hombre el parásito no es capaz de desarrollarse y alcanzar la etapa adulta [24]. Las infestaciones por *Anisakis*, en humanos, son más prevalentes en aquellas áreas con elevado consumo de pescado, sobre todo crudo (Japón, costa del Pacífico de América del Sur, Holanda...).

Las larvas de *A. simplex* tienen una longitud aproximada de 2 a 3 cm y un aspecto filiforme de color blanco-rosado. Cuando se observan en el tejido aparecen muy enrolladas sobre sí mismas (Figura 6). Las larvas de

INTRODUCCIÓN

Pseudoterranova son de mayor tamaño, unos 4-6 cm, más oscuras, de aspecto marronáceo y se observan menos enrolladas en los tejidos (Figura 7).



<http://dpd.cdc.gov>

Figura 6 : Larva de *Anisakis*.



Figura 7: *Pseudoterranova*.

Al igual que para *Toxocara*, a continuación se describe la clasificación taxonómica de *Anisakis* y *Pseudoterranova* siguiendo las directrices del *Taxonomicon* [3].

Reino: Animalia; **Subreino:** Eumetazoa; **Dominio:** Eukaryota; **Rama:** Protostomia; **Grado:** Bilateria; **Infrareino:** Ecdysozoa; **Superphylum:** Aschelminthes; **Phylum:** Nematoda; **Clase:** Secernentea; **Subclase:** Rhabditia; **Orden:** Ascaridida; **Suborden:** Ascaridina; **Superfamilia:** Ascaridoidea; **Familia:** Anisakidae; **Géneros:** *Anisakis*, *Pseudoterranova*.

Ciclo biológico.

El parásito adulto suele encontrarse en el estómago/intestino de gran variedad de mamíferos marinos (hospedador definitivo).

Las hembras adultas producen huevos no embrionados que se expulsan al mar a través de las heces del hospedador definitivo y se desarrollan en huevos embrionados en el agua. Los huevos que se expulsan al mar alojan la larva en su estadio inicial (L1), desde el cual van madurando hasta L2 que eclosiona del

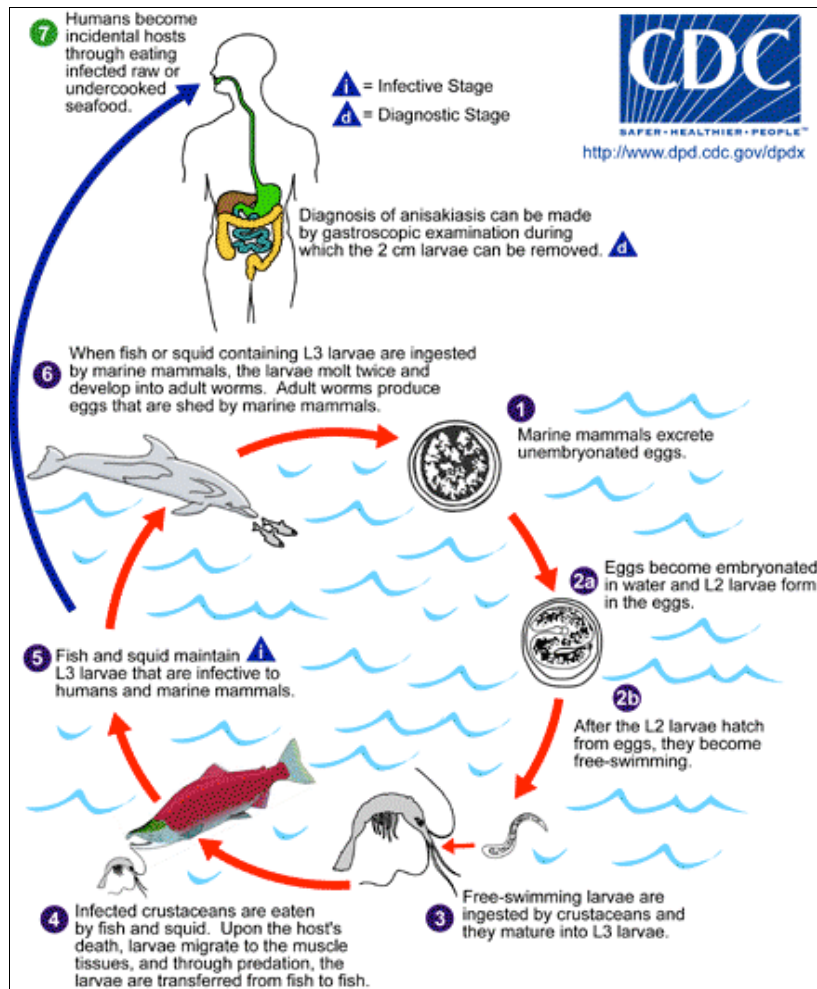
INTRODUCCIÓN

huevo con un tamaño de 0,3-0,4 mm y es ingerida por pequeños crustáceos (hospedador intermediario) en los cuales se alcanza el estadio L3 de unos 3 mm. Este estadio es el infectivo para peces y cefalópodos que consumen los pequeños crustáceos parasitados por las L3.

Entonces, la larva migra del intestino hacia la cavidad peritoneal donde crece hasta alcanzar unos 3 cm. Por depredación, la L3 se transfiere de pez a pez, pero no completa el ciclo a menos que llegue al estómago de un mamífero marino. Peces y cefalópodos mantienen el tercer estadio larvario que es el que va a ser infectivo para los humanos y otros mamíferos marinos, actuando como hospedadores paraténicos o de transporte. Cuando el pez o cefalópodo que contiene la L3 es ingerido por un mamífero marino, la larva muda dos veces (L4) y alcanza la forma adulta (L5) cerrando el ciclo.

En humanos la parasitación se produce por ingesta de pescado parasitado crudo o poco cocinado. El humano es un hospedador accidental ya que en él las larvas no pueden sobrevivir ni reproducirse, como máximo mudan a L4 pero mueren en aproximadamente 3 semanas (Figura 8). Después de la ingestión, las larvas penetran en la mucosa gástrica e intestinal produciendo los síntomas gástricos de la anisakiosis [25].

La anisakiosis humana, se describió por primera vez en la década de los años 60 en Holanda, por Van Thiel [26] y desde entonces, la prevalencia de esta parasitación ha ido en aumento sobre todo en relación con los hábitos de consumo de pescado.



[http:// dpd.cdc.gov/dpdx](http://dpd.cdc.gov/dpdx)

Figura 8. Ciclo biológico de *Anisakis simplex*.

Manifestaciones clínicas.

La parasitación por *A. simplex* puede desencadenar 4 cuadros clínicos distintos [27]:

Anisakiosis gástrica.

El inicio de la anisakiosis gástrica comienza entre 1 y 2 horas después de la ingesta de la larva. Una vez que la larva alcanza el estómago, ésta se adhiere a la mucosa y libera enzimas proteolíticas. Estas proteasas producen lesiones erosivas y/o hemorrágicas formando un túnel tanto por la mucosa como la submucosa gástricas. Esta fase aguda se manifiesta con dolor epigástrico intenso, vómitos, diarrea y febrícula. Generalmente, estos síntomas se acaban

INTRODUCCIÓN

resolviendo en pocos días, pero puede convertirse en un proceso crónico y alargarse semanas o meses.

Anisakiosis intestinal.

Se caracteriza por un dolor abdominal intermitente o crónico que aparece a los 5-7 días de la ingesta de la larva. Los individuos infectados pueden llegar a desarrollar ascitis y/o presentar semiología de un abdomen agudo. La infección intestinal tiene lugar en el íleon terminal principalmente.

Anisakiosis ectópica (o extragastrointestinal).

Mucho menos frecuente que las anteriores, es debida a una migración de la larva a la cavidad peritoneal o pleural, hígado, páncreas y ovario. Recientemente se ha descrito un caso de reacción cardiovascular asociada a anisakiosis [28].

Anisakiosis alérgica.

Los productos metabólicos liberados por las larvas son potentes alérgenos capaces de producir reacciones de hipersensibilidad mediada por IgE que pueden ir desde la más frecuente que es la urticaria aguda [29, 30] hasta la más grave: la anafilaxia [31, 32]. El tiempo de latencia desde la ingesta de la larva a la aparición de los síntomas es menor que en las manifestaciones digestivas (primeras 2 horas). También se ha asociado la participación de *A. simplex* en pacientes afectos de urticaria crónica o aguda. El término anisakiosis gastroalérgica se ha empleado en aquellas reacciones que se producen pocas horas después de la ingesta de pescado parasitado con larvas vivas de *A. simplex* y que producen a la vez una gastritis aguda acompañada de manifestaciones alérgicas [33].

2. ANTÍGENOS DE *Toxocara canis* Y DE *Anisakis simplex*.

2.1. Antígenos de *Toxocara canis*.

La mayoría de las investigaciones sobre la bioquímica de los antígenos de *T.*

INTRODUCCIÓN

canis se ha centrado en las proteínas excretoras-secretoras del estadio infectante L2 de este parásito [34]. Estas proteínas han demostrado ser de gran utilidad en el diagnóstico inmunológico de los síndromes de LMV y LMO. En relación con su función, se cree que estas proteínas están implicadas en la evasión de la respuesta inmunitaria del hospedador por parte del parásito [34], idea que se refuerza al tener en cuenta que este grupo de proteínas de excreción-secreción está constituido en su mayor parte por una familia de al menos 6 mucinas con un elevado poder antigénico [35]. Las larvas L2 alteran periódicamente estas mucinas [36] que recubren la superficie larvaria [37] con la intención de desviar la acción de la respuesta inmunológica del hospedador [38].

Otro grupo de proteínas descritas en el conjunto de los productos de excreción-secreción son las lectinas tipo C [9]. Se trata de una familia de proteínas que unen carbohidratos (que pueden ser desde simples monosacáridos, hasta complejos glicoconjugados), de una manera dependiente de calcio (Ca^{+2}) [39]. En general, las lectinas están implicadas en la activación del sistema inmunológico tanto en vertebrados como en invertebrados, lo que sugiere que estas proteínas pueden intervenir en la relación parásito-hospedador, sobre todo en la evasión del sistema inmunológico [40].

De todos los antígenos identificados e individualizados de *Toxocara* (Tabla 1) sólo el grupo de poliproteínas TBA-1 [41, 42] ha sido asociado al término alérgeno por su similitud estructural con el grupo ABA-1 descrito en *Ascaris* spp [43]. Se trata de un grupo de polipéptidos capaces de unir lípidos. En el momento inicial de su síntesis son secretados en forma de grandes polímeros y a medida que son excretados, son digeridos en pequeños polipéptidos con un peso aproximado de 15 kDa [34]. Estas pequeñas subunidades son las que parecen inducir la respuesta alérgica en un amplio número de hospedadores [34].

Sin embargo, aunque TBA-1 es estructuralmente similar a ABA-1, actualmente se desconoce su relevancia tanto diagnóstica como clínica en los procesos de hipersensibilidad mediada por IgE [41].

INTRODUCCIÓN

Por otra parte tan solo diez antígenos de nematodos forman parte de la lista oficial de alérgenos (www.allergen.org); de los cuales no hay ninguno que se asocie al género *Toxocara* como fuente alérgica (Tabla 2).

Por tanto, desde el punto de vista alergológico en el momento actual no existen datos que permitan definir alérgenos relevantes que posibiliten abordar reacciones de hipersensibilidad asociada a la presencia de *Toxocara*.

Antígenos Nativos [44]		Antígenos Recombinantes [9,41]	
Excreción-Secreción	Superficie larvaria		
PM (kDa)	PM (kDa)	PM (kDa)	Características
		26	Proteína de unión a fosfatidiletanolamina
32	32	32	Lectina tipo C (dependiente de calcio)
		45	Lectina (no confirmado)
55	Componentes intermedios	55	Lectina
70		70	Lectina tipo C
120	120	120	Mucina
400		400	Análogo de proteoglicanos
		15	Poliproteína TBA-1

Tabla 1. Relación de antígenos nativos y recombinantes de *Toxocara canis*.

2.2. Antígenos de *Anisakis simplex* [27].

A. simplex presenta 3 tipos de proteínas alérgicas:

- a) Proteasas e inhibidores de proteasas liberados durante la penetración de la larva, conocidas como alérgenos de excreción/secreción (ES).
- b) Alérgenos somáticos obtenidos del cuerpo entero de *A. simplex*.
- c) Alérgenos de cutícula secretados para proteger el cuerpo del *A. simplex* de la acción de los jugos gástricos.

INTRODUCCIÓN

Dependiendo del destino de la larva, los individuos se exponen a diferentes alérgenos. Así pues, durante la penetración de la larva y posterior muerte de la misma, los pacientes se exponen a todos los alérgenos, mientras que si la larva se elimina intacta por el tracto gastrointestinal los pacientes sólo se exponen a los alérgenos ES. Por último, si la larva ingerida muere enseguida, la exposición principal es a alérgenos somáticos y cuticulares y mínima a los de ES.

El Sub-Comité de Nomenclatura de Alérgenos perteneciente a la Organización Mundial de la Salud (OMS) y a la Unión Internacional de Sociedades de Inmunología (UISI) indican que el nombre oficial de un alérgeno debe estar identificado por las tres primeras letras correspondientes al género de la fuente alergénica y la primera o las dos primeras letras correspondientes al nombre de la especie, seguido de un número arábigo que refleja el orden en el que se ha identificado cada alérgeno.

En el caso de *A. simplex* se han descrito hasta el momento, doce alérgenos pero sólo de los 9 primeros se conoce la familia a la que pertenecen y su función (Tabla 2).

Los alérgenos Ani s 1, Ani s 4, Ani s 5, Ani s 6, Ani s 7, Ani s 8 y Ani s 9 son alérgenos de ES, mientras que Ani s 2 y Ani s 3 son alérgenos somáticos. De todos ellos, sólo se consideran alérgenos mayores a Ani s 1, Ani s 2, Ani s 3 y Ani s 7.

El alérgeno mayor Ani s 1 tiene un peso molecular de 24 kDa cuya función es ser inhibidor de serin-proteasas. Es altamente específico ya que entre el 86 y el 100% de los pacientes alérgicos a *A. simplex* desarrollan IgE específica a este alérgeno [45, 46].

Como se ha mencionado anteriormente, Ani s 7 es también un alérgeno mayor de ES con un peso molecular de 139 kDa. Parece ser que la sensibilización a dicho alérgeno ocurre durante la fase aguda de la infección, cuando se liberan

INTRODUCCIÓN

los antígenos de excreción-secreción, y que aunque la larva muera, los niveles de inmunoglobulinas perduran en el individuo [47].

	Alérgenos	Función	PM
<i>Anisakis simplex</i>	Ani s 1	Inhibidor de la serina proteasa	24 kDa
	Ani s 2	Paramiosina	97 kDa
	Ani s 3	Tropomiosina	41 kDa
	Ani s 4	Inhibidora de la proteasa cisteína	9 kDa
	Ani s 5	Inhibidor de la serina proteasa	15 kDa
	Ani s 6	Familia de proteínas SXP/RAL- 2	7 kDa
	Ani s 7	Glicoproteína	139 kDa
	Ani s 8	Familia de proteínas SXP/RAL- 2	15 kDa
	Ani s 9	Familia de proteínas SXP/RAL- 2	14 kDa
	Ani s 10	Desconocida	22 kDa
	Ani s 11	Desconocida	27 kDa
	Ani s 12	Desconocida	31 kDa

Tabla 2. Alérgenos de nematodos incluidos en la nomenclatura oficial de alérgenos (<http://www.allergen.org>).

En un estudio posterior [48], se ha demostrado que la utilización de Ani s 1 y Ani s 7 como alérgenos recombinantes en métodos de inmunodetección, no sólo mejora la especificidad de la técnica, sino que permite distinguir entre una infección antigua y una infección reciente por *A. simplex*. Es decir, la detección de IgE específica frente a rAni s 1 podría ser un indicador de una infección antigua, mientras que la detección de niveles elevados de IgE específica frente a rAni s 7 indicarían una infección reciente o actual.

Por último, los alérgenos Ani s 2 y Ani s 3 son proteínas somáticas que tienen un elevado porcentaje de homología con otras miosinas, indicando su participación en procesos de reactividad cruzada con otros organismos. En el

caso de Anis 2 existe reactividad cruzada demostrada con *Dermatophagoides pteronyssinus* / *Blomia tropicalis* y en el caso de Anis 3 con ácaros del polvo, crustáceos, moluscos e insectos [49].

3. DIAGNÓSTICO.

Debido a que las larvas de *T. canis* o las de *A. simplex* no crecen ni se multiplican en el hospedador accidental humano y a que se distribuyen ampliamente por todos los tejidos del organismo, en el primer caso, o principalmente en el estómago y duodeno en el caso de *Anisakis*, la identificación directa del parásito por los métodos parasitológicos habituales es muy dificultosa.

Como consecuencia, el diagnóstico de estas parasitosis, se basa en la identificación indirecta de dichos parásitos, principalmente mediante técnicas inmunológicas. El objetivo, es detectar y cuantificar la presencia de anticuerpos de diferentes isotipos frente a diversos antígenos parasitarios tal y como se expresa en el apartado anterior.

El diagnóstico basado en la detección de antígenos individualizados, fundamentalmente de naturaleza proteica, define una manera de diagnóstico molecular que no sólo permite identificar al parásito de forma indirecta, sino que en algunos casos, dependiendo de la naturaleza y función de cada antígeno, nos facilita información clínica relevante. A este respecto, se ha podido demostrar que distintos antígenos pertenecientes a una misma o a diversas especies, podrían estar implicados en la expresión de diferentes situaciones clínicas. Por lo tanto, podríamos predecir que el diagnóstico molecular por medio de componentes antigénicos sería de gran utilidad tanto en el diagnóstico, como el pronóstico de las infecciones por parásitos y sus expresiones clínicas [48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55].

Desde las primeras descripciones de los casos de toxocarosis hasta la actualidad, el espectro clínico de esta infección ha variado ostensiblemente.

INTRODUCCIÓN

En este sentido, la utilización de técnicas de inmunodiagnóstico cada vez más sensibles y específicas ha permitido demostrar la presencia de casos de toxocarosis, sin síntomas evidentes, con sintomatología poco asertiva, con sintomatología encubierta, o con síntomas achacables a otras patologías tanto infecciosas, como de base inmunológica. En esta línea, podemos encontrar diversos trabajos donde se asocian toxocarosis y alteraciones cutáneas, principalmente en forma de urticarias [56, 57, 58, 59, 60]. En gran parte de esos casos, dichas alteraciones cutáneas son la única manifestación que indica presencia de enfermedad [61], sobre todo en aquellos en los que existe una mala respuesta al tratamiento antihistamínico.

Sin duda alguna, la metodología elegida, así como la aplicación del concepto de diagnóstico por componentes, ayudaría a relacionar algunas parasitosis con expresiones clínicas poco relevantes. Bellanger y colaboradores [62] ponen de manifiesto que mientras que si se utilizan técnicas de ELISA, se demuestra que no existen diferencias significativas entre los pacientes con urticaria crónica y la población general, el empleo de la inmunotransferencia, permite discriminar entre urticarias crónicas y dicha muestra control. Esto podría deberse a que mientras el método ELISA emplea como antígenos una mezcla de glicoproteínas, que presentan reactividad cruzada con otros helmintos como *Ascaris spp*, *Enterobius spp* o *Anisakis spp* [63], la inmunotransferencia basa su especificidad en el reconocimiento de grupos de bandas de bajo peso molecular, exclusivas de *Toxocara* [50]

4. HIPERSENSIBILIDAD, PARÁSITOS Y URTICARIA.

La toxocarosis es una parasitosis cosmopolita con mayor prevalencia en las regiones templadas y tropicales del mundo. El riesgo de que el ser humano adquiera una toxocarosis resulta de la elevada prevalencia de esta parasitosis en perros y gatos, sus hospedadores definitivos, y del gran número de estos animales que comparten hábitat con los seres humanos [64].

INTRODUCCIÓN

A pesar de que la mayoría de las infestaciones en humanos son asintomáticas, tal y como se ha descrito anteriormente, esta parasitación puede conducir a estados de mayor gravedad, como el síndrome de la larva migrans visceral [65].

Los datos de seroprevalencia de que disponemos en nuestro país son muy heterogéneos, con valores que oscilan entre el 1% [66, 67] y el 66% [66], en función de las características de la población estudiada, la edad, el nivel socioeconómico y las técnicas utilizadas en el diagnóstico. Estos hechos hacen que la comparación de dichos resultados a nivel práctico sea muy difícil de interpretar debido precisamente, a la diversidad de protocolos de estudio empleados y a la variedad de las técnicas de diagnóstico utilizadas.

Varios estudios epidemiológicos [68, 69, 70], sugieren que la infección por *T. canis* predispone al ser humano al desarrollo de enfermedades alérgicas, incluida el asma. La mayoría de estos estudios, son transversales, en los que la exposición a *T. canis* se define mediante la presencia de anticuerpos frente a los antígenos secretores/excretorios de las larvas de dicho nematodo [69, 70].

Por otra parte, los estudios realizados en modelos experimentales murinos de la infección por *T. canis*, han podido demostrar que las larvas infectantes de este nematodo inducen [71, 72], una inflamación pulmonar persistente, marcada por una fuerte eosinofilia, producción de IgE e hiperreactividad bronquial, caracterizada por la activación de respuestas Th2. Sin embargo, no se ha podido demostrar una relación causal directa con el desarrollo de enfermedades alérgicas.

Tan solo se ha comunicado que individuos adultos expuestos a *T. canis*, presentan unos niveles de sensibilización a aeroalérgenos más elevados, sobre todo a ácaros del polvo, indicando una posible relación entre la exposición a *T. canis* y las manifestaciones atópicas, determinadas por los valores de IgE específica y por las pruebas cutáneas realizadas [70].

INTRODUCCIÓN

La anisakiosis también se considera una parasitación ubicua. A pesar de que el 90% de los casos se ha detectado en Japón, otras áreas costeras de Europa, entre las cuales destaca España, están aumentando su prevalencia debido a la costumbre de comer pescado marinado o poco cocinado (sobre todo en la zona centro y norte). España tiene una de las tasas mundiales más alta de consumo de pescado (89g/persona/día) [73] y gran parte del pescado de nuestros mercados está parasitado por *A. simplex* [74, 75]. La elevada prevalencia de IgE específica frente a *A. simplex* está muy bien documentada, así como la asociación entre IgE específica y las manifestaciones clínicas [76]. En un estudio multicéntrico llevado a cabo por la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC) se observó una sensibilización a *A. simplex* del 38,1% en los pacientes que habían presentado recientemente un episodio de urticaria o edema y del 13,1% en el grupo de personas asintomáticas [77]. En otros estudios realizados la sensibilización oscila entre el 22% [78] y el 75% [79] en función de la región estudiada.

En Japón la mayoría de pacientes presentan anisakiosis gástrica y en Europa en cambio, es más frecuente la intestinal. España debido a su afición por comer anchoas caseras y boquerones en vinagre, presenta una mayor prevalencia de manifestaciones alérgicas [76].

La mayoría de las infecciones por parásitos inducen patología crónica más que aguda, incluso en aquellos casos en los que se objetivan niveles altos de parásitos y en los que a su vez, se desarrollan mecanismos que intentan evadir la respuesta inmunológica del huésped para asegurarse su supervivencia.

El caso de la anisakiosis humana es peculiar porque este parásito no se adapta a vivir en el cuerpo humano y la infección es transitoria. Además, más del 90% de los casos descritos están producidos por una única larva [30].

Recientemente se ha demostrado que mientras que en las otras parasitaciones los cambios patológicos ocurren en el tracto gastrointestinal durante la infección, con *Anisakis simplex*, estos cambios son el resultado de una combinación de la acción directa de la larva durante su invasión tisular y la

INTRODUCCIÓN

compleja interacción entre el sistema inmune del huésped y las sustancias liberadas por el parásito o contenidas en su interior [30].

La alta prevalencia de sensibilización a *Anisakis simplex* sin sintomatología acompañante, a pesar del gran consumo de pescado, supone para los facultativos un importante factor de confusión a la hora de establecer el diagnóstico [77].

Existen resultados controvertidos sobre si las infecciones por parásitos tienen un papel protector o predictivo para la alergia y el asma [80]. Parece ser, que las helmintiasis de baja prevalencia u ocasionales, típicas de países industrializados, tendrían un papel estimulador de la reactividad alérgica, mientras que las infecciones parasitarias de alta prevalencia, típicas de los países en vías de desarrollo, tendrían un papel supresor [80, 81]. En estos mismos trabajos queda claro que existe un vínculo de unión entre la exposición a *Toxocara* y las características de la alergia, pero el mecanismo que explica esta conexión está todavía por esclarecer. Como en la mayoría de trabajos, los autores proponen la necesidad de realizar más estudios, puesto que la toxocarosis es una parasitación frecuente en los países industrializados [15].

Siguiendo una línea similar, el grupo de Pinelli y colaboradores estudia el efecto de la infección con *T. canis* en un modelo murino, que a su vez, se somete a una inflamación alérgica experimental de la vía aérea [82]. Si varios trabajos habían sugerido que las helmintiasis tenían potencial terapéutico frente a diferentes inmunopatologías [83, 84], en este estudio se demuestra que una infección previa con *T. canis* conlleva una exacerbación de la inflamación alérgica experimental de la vía aérea. El mecanismo por el cual las helmintiasis modulan la respuesta inmune y la identificación de las moléculas implicadas también necesita de más estudios, pero éste apoya la hipótesis de que no todos los parásitos son capaces de inhibir las enfermedades inflamatorias, o que todas las situaciones en el parasitismo por una determinada especie no estimula de la misma manera el sistema inmunológico del hospedador.

INTRODUCCIÓN

Ya se ha comentado con anterioridad que en el caso de *Anisakis*, se ha demostrado que los metabolitos liberados por las larvas son potentes alérgenos capaces de producir reacciones de hipersensibilidad mediadas por IgE [35, 36].

Las infecciones por nematodos, tanto las de alta prevalencia clásicamente ubicadas en regiones tropicales y subtropicales del mundo como las de distribución universal, se han convertido en la actualidad, en un problema de salud creciente en países industrializados de Europa y Estados Unidos.

Entre los principales nematodos que se han implicado como posibles agentes etiológicos de urticaria destacan *Ascaris lumbricoides* [85], *Anisakis simplex* [86, 87], *Enterobius Vermicularis* [88, 89] y *Toxocara Canis* [62, 90].

Los cambios demográficos junto con los cambios climáticos y de nuestros hábitos en general, convergen para favorecer el incremento y diseminación de las parasitosis [91]. De los ascáridos patógenos para el hombre presentes en nuestro medio, sin duda, los más prevalentes en población adulta con implicación en las urticarias son *Toxocara* y *Anisakis* [66, 67, 70, 76, 77, 78, 79].

La urticaria crónica se define como la aparición espontánea de habones por lo menos durante 6 semanas [92] y en nuestra área se estima que presenta una prevalencia acumulada del 2.5-2.9% [93]. El 75% o más de las urticarias crónicas son espontáneas [92] o autoinmunes [94, 95] y de las urticarias crónicas no autoinmunes, se considera que los parásitos helmintos juegan un papel destacado como uno de los principales grupos etiológicos [96]. Demirci y colaboradores [56], apoyan esta afirmación demostrando una sensibilización de *Toxocara canis* en un 29% de los pacientes con urticaria crónica frente a un 16% de los controles sanos y señalan la importancia de conocer la prevalencia de las parasitosis en cada región de cara a valorar una posible causa de urticaria.

La urticaria aguda, según el grupo de Daschner [97], debería dividirse en 2 grupos: la que dura menos de 48 horas (producida por reacciones IgE

INTRODUCCIÓN

mediadas en las cuales se relacionan alimentos, fármacos o venenos como causas etiológicas) y la que dura desde 48 horas hasta las 6 semanas que ya la clasificamos como crónica. Es en este segundo grupo donde establecer la causa etiológica es muy complicado.

En cuanto a su influencia en el estatus atópico de los pacientes con anisakiosis gastroalérgica (GAA) Daschner [97] demostró que sólo el 17% de los pacientes con GAA tenían alergia a inhalantes concomitantemente comparado con una prevalencia de alergia del 30% en la población general. Otra cuestión distinta es la sensibilización por vía inhalada de un alérgeno ocupacional como en el caso de manipuladores de pescado o harina de pescado en los cuales se ha estimado que del 7 al 36% de estos trabajadores acaba desarrollando asma y el 3-11% urticaria o dermatitis de contacto [98].

Alrededor del 50% de los pacientes que refieren urticaria crónica a los cuales se les realiza un estudio alergológico rutinario presenta sensibilización a *Anisakis simplex* [99], sobre todo en poblaciones como la nuestra donde el consumo de pescado es elevado. Y tanto los pacientes que tienen urticaria aguda como crónica y están sensibilizados a *Anisakis* presentan un patrón de sensibilización a aeroalérgenos donde los ácaros del polvo son los más frecuentes [100]. La detección de anticuerpos IgG₄ manifiesta un parasitismo agudo previo y en general una dieta libre de pescado mejora los síntomas en la mayoría de pacientes con IgG₄ específica detectable [99]. Otros estudios como el de López-Sáez [101] en Madrid no son capaces de establecer una relación causal directa entre la presencia de IgE específica a *Anisakis* y la urticaria crónica. En todos los pacientes que estudiaron a parte del *Anisakis* que fue positivo en un 55%, también hallaron un 21,8% de sensibilizaciones a *Ascaris lumbricoides*, 3 pacientes a *Toxocara* y 5 a *Echinococcus granulosus*. De manera que concluyen que a pesar de encontrar una alta sensibilización a parásitos en su población, ésta no puede considerarse la causa de la urticaria crónica, o el factor que perpetúe los síntomas.

Según Cuéllar y colaboradores [51], la utilización de alérgenos recombinantes nos ayuda a la hora del diagnóstico y en el caso de *Anisakis* la determinación

INTRODUCCIÓN

de alérgenos Ani s 1 y Ani s 7 nos permite discriminar entre infección por Anisakis y otras entidades alérgicas que se han relacionado con Anisakis. En este trabajo dichos autores, observan que la IgE frente a Ani s 1 se asocia principalmente a reacciones alérgicas debidas a anisakiosis gastroduodenal, mientras que dicha molécula, no debería considerarse un alérgeno mayor en pacientes con urticaria crónica que a la vez están sensibilizados a Anisakis.

Son muchos los trabajos que recomiendan incluir en la metodología de trabajo, el serodiagnóstico de estos ascáridos, especialmente en aquellos pacientes que presentan urticaria crónica idiopática [56, 58] con exposición ambiental alta [60] (áreas rurales, contacto elevado con perros), base atópica [70, 102] etc. y en general, con mala respuesta al tratamiento habitual con antihistamínicos.

Dado que estas parasitosis se muestran silentes en la mayoría de casos, la realización de este tipo de estudios de forma actualizada permitiría disponer de una base de datos sólida sobre la que se podrían proponer protocolos más eficaces para el diagnóstico, con el fin de establecer programas de control de dichas zoonosis y determinar su papel en el desarrollo de manifestaciones alérgicas [66, 67, 70].

Con los antecedentes expuestos y ante la posibilidad de poder utilizar en la actualidad antígenos individualizados que nos permiten establecer el diagnóstico molecular; la identificación de los distintos isotipos de inmunoglobulinas dirigidas contra diferentes antígenos, podría establecer unas bases mucho más sólidas y eficaces tanto en el diagnóstico como en el pronóstico de determinadas formas de parasitosis difíciles de identificar por sí mismas; o visto desde el punto de la alergología, se podrían ver como causas de reacciones de hipersensibilidad no usuales.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

En base a lo expuesto anteriormente y a los antecedentes existentes, el objetivo que se planteó en el presente estudio fue **evaluar la utilización de componentes antigénicos/alergénicos de parásitos no diagnosticables mediante métodos parasitológicos rutinarios (análisis hematológico o coproparasitológico), como posibles marcadores diagnósticos y/o pronósticos en la toxocarosis y la anisakiosis, así como su posible rol en desarrollo de las urticarias de origen desconocido.**

Para ello se planteó realizar el análisis de los resultados del diagnóstico inmunológico clásico y del diagnóstico molecular de la anisakiosis y la toxocarosis en grupos de estudio que incluyeron una población de sujetos sin urticaria (de población general) y otra compuesta por pacientes con urticaria de origen desconocido.

Se planificaron los siguientes hitos:

1. Consecución de las poblaciones de muestra y control para el estudio protocolizado. Recogida y evaluación de datos clínicos.
2. Diagnóstico inmunológico clásico de los sujetos de las muestras mediante pruebas cutáneas, cuantificación de IgE total y ECP, técnicas de ELISA e inmunotransferencia para la cuantificación e identificación de antígenos larvarios.
3. Diagnóstico inmunológico por componentes (*Component Resolved Diagnosis*) mediante ELISA y/o FEIA con antígenos disponibles (*Anisakis*) e inmunotransferencia como aproximación al diagnóstico molecular para la identificación de antígenos larvarios de *Toxocara*.
4. Análisis estadístico de los resultados.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. SUJETOS DE ESTUDIO.

1.1. Población de sujetos alérgicos:

Se eligió una cohorte prospectiva en el ámbito del Consorcio Sanitario de Terrassa que atiende a una población de referencia de unos 150.000 habitantes y engloba las poblaciones de Terrassa (áreas básicas de Terrassa Este, Terrassa Norte y Sant Llatzer), Castellbisbal, Sant Quirze del Vallés, Sabadell (área básica de Can Rull) y Rubí (área básica de Anton de Borja).

En el presente estudio se incluyeron pacientes adultos que acudieron en primera visita a la Unidad de Alergia, y que cumplieron los siguientes criterios de inclusión:

- Ser adulto (edad igual o superior a 16 años).
- Presentar sensibilización a neumoalérgenos comunes y clínica compatible con alergia. (Ver panel de alérgenos utilizados en el presente estudio, apartado 2.2).
- Recogida de muestra de heces y realización de análisis coproparasitológico.
- Firma de consentimiento informado.

Se consideraron criterios de exclusión el ser menor de edad o no cumplir cualquiera de los otros criterios anteriores.

El periodo de inclusión fue de 24 meses.

1.2. Población general o control:

Se estudiaron 123 sueros de donantes sanos (Registro Nacional de Biobancos. Sección colecciones. Código: C.0002774. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Economía y Competitividad. Gobierno de España). Laboratorio de Parasitología e Inmunoalergia. Centro de Investigación Lascaray Ikergunea, UPV/EHU. Campus de Álava. Vitoria.

El estudio presenta un informe favorable del Comité de Ética de Investigación Clínica del Consorcio Sanitario de Terrassa para su realización (Anexo II).

2. METODOLOGÍA.

2.1. Cuestionarios clínicos.

Para la recogida de los datos de las muestras, se realizó, a todos los pacientes incluidos en el estudio, una encuesta donde se reflejaban los siguientes ítems:

- Edad
- Sexo. Según este parámetro se dividió a la población en dos grupos:
 - Masculino.
 - Femenino.
- Nacionalidad. Según este parámetro se clasificaron los pacientes en dos grupos:
 - Autóctono: persona nacida en nuestra área de influencia o que llevara más de 5 años viviendo en la zona.
 - Inmigrante: persona que llevara menos de 5 años viviendo en la zona.
- Hábitat. Según este parámetro se clasificaron a los pacientes en dos grupos:
 - Rural: si el paciente procedía de una población inferior a 20.000 habitantes.
 - Urbano: si el paciente procedía de una población superior a 20.000 habitantes.
- Contacto con animales de riesgo. En este parámetro se valoraba si el paciente tenía contacto asiduo con perros, gatos o ambos.
 - Con contacto: si el paciente convivía con animales.
 - Sin contacto: si el paciente no mantenía ningún contacto con perros y/o gatos.

- Geofagia. Según este parámetro se valoraba si existía riesgo de ingesta de huevos y dividía a la población en dos grupos:
 - Síndrome de pica positivo.
 - Síndrome de pica negativo.
- Motivo de consulta: Este apartado hacía referencia a los síntomas que presentaba el paciente y que habían motivado su derivación a la Unidad como primera visita.
 - Rinitis.
 - Conjuntivitis.
 - Asma bronquial.
 - Alergia alimentaria.
 - Urticaria aguda.
 - Urticaria crónica.

2.2. Estudio alergológico.

A todos los pacientes que acudieron a la Unidad de Alergia del Hospital de Terrassa, se les realizaron pruebas cutáneas mediante prick con extractos comerciales de los neumoaérgenos predominantes en nuestra área geográfica: ácaros del polvo (Leti®, Madrid), hongos (*Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*) (ALK-Abelló®, Madrid), epitelios de perro y gato y polen de *Cupresaceas* (Stallergenes®, Francia) y pólenes de *Lolium perenne*, *Cynodon dactylon*, *Phragmites communis*, *Olea europaea*, *Platanus acerifolia*, *Pinus sp.*, *Parietaria judaica*, *Plantago lanceolata*, *Artemisia vulgaris* y *Chenopodium album* (Bial-Arístegui®, Bilbao). Las pruebas cutáneas se realizaron según la técnica habitual que consiste en aplicar una gota del extracto alergénico en la superficie volar del antebrazo y se rasca con una lanceta de 1 mm (Leti®, Madrid) con un ángulo de 90°. Como control positivo se emplea histamina a concentración de 10 mg/ml y como control negativo suero fisiológico al 0,9%. Se considera que la prueba es positiva cuando la pápula a los 10 minutos de su realización alcanza un diámetro superior a 3 mm² [103].

Se les solicitó un análisis de sangre rutinario donde constaba una determinación de la eosinofilia periférica, IgE total e IgE específica a los

neumoalérgenos a los que estaban sensibilizados, y determinación de la proteína catiónica del eosinófilo (ECP).

2.3. Clasificación de la población.

La urticaria crónica se define como la aparición espontánea de habones por lo menos durante 6 semanas y aguda la que dura menos de 48 horas [92]. En base a la clínica que referían los sujetos desde el punto de vista dermatológico (presencia de urticaria y tipo) y el resultado obtenido en las pruebas cutáneas a aeroalérgenos comunes, los 400 pacientes que engloban el estudio se clasificaron en los siguientes grupos:

- No alérgicos sin urticaria o población general: 123 individuos.
- Alérgicos con urticaria (aguda y crónica): 51 individuos.
- Alérgicos sin urticaria: 182 individuos.
- No alérgicos con urticaria (aguda y crónica): 44 individuos.
- Urticarias totales (agudas y crónicas en alérgicos y no alérgicos): 95 individuos.
- Urticaria aguda: 40 individuos.
- Urticaria crónica: 55 individuos.
- Alérgicos con urticaria aguda: 27 individuos.
- No alérgicos con urticaria aguda: 13 individuos.
- Alérgicos con urticaria crónica: 24 individuos.
- No alérgicos con urticaria crónica: 31 individuos.

2.4. Estudio coproparasitológico.

A todos los pacientes que acudieron a la Unidad de Alergia del Hospital de Terrassa se les solicitó un estudio de parásitos en heces. El estudio parasitológico se realizó mediante un método de concentración utilizando Paraprep L SAF solution DiaMondial® (Alemania), según instrucciones de la compañía manufacturadora.

2.5. Estudio inmunológico específico para *Toxocara* y *Anisakis*.

A todos los pacientes se les recogió una muestra de 5 cc de sangre. Las muestras de sangre obtenidas de cada individuo fueron centrifugadas en el laboratorio a 3000 r.p.m. durante 10 minutos para la obtención de suero. Dichas muestras fueron debidamente identificadas y se protegieron mediante la ley de investigación biomédica 14/2007 del 3 de Julio, y se emplearon códigos apropiados identificativos de la historia clínica asociada a cada paciente.

Las muestras se conservaron a -40°C . En ningún caso dichas muestras han sido utilizadas para otros objetivos que no fueran los descritos en este estudio.

El estudio inmunológico incluyó:

- Detección y cuantificación de IgG e IgE específica mediante ELISA, utilizando antígeno excretor secretor de larvas L2 de *Toxocara canis*. (EIA Toxocara IgG, TEST LINE Clin. Diag. Ltd, República Checa) [104].
- Detección y cuantificación de IgG e IgE específica mediante FEIA, utilizando antígeno larvario de *Anisakis simplex*. (ImmunoCAP FEIA, Thermofisher Sci. USA).
- Detección y cuantificación de IgG e IgE específica mediante ELISA, utilizando antígenos recombinantes de *Anisakis* (Ani s 1 y Ani s 7) (Trisakis 170, Santiago de Compostela, España) [47, 48, 51]
- Detección de IgG e IgE específica mediante inmunotransferencia, utilizando antígeno excretor secretor de larvas L2 de *Toxocara* (BLOT Toxocara IgG TEST LINE Clin. Diag. Ltd, República Checa) [50].
- Detección de IgG específica a tropomiosina (ImmunoCAP FEIA, Thermofisher Sci. USA).
- Detección y cuantificación de la proteína catiónica del eosinófilo (ImmunoCAP FEIA, Thermofisher Sci. USA).

Cabe destacar que todo el estudio inmunológico de las muestras se ha llevado a cabo en ciego en el laboratorio.

3. PROTOCOLOS.

3.1. Protocolo EIA *Toxocara*. Medida de IgG específica (TEST-LINE CLINICAL DIAGNOSTICS).

MATERIALES:

Solución amortiguadora para diluir las muestras.

Conjugado: IgG (de origen animal) anti-IgG humana conjugada a Peroxidasa.

Sustrato: TMB/H₂O₂.

Solución de lavado.

Solución de parada: Ácido sulfúrico 1M.

MÉTODO:

1. Diluir las muestras 1:100 en tampón de dilución y mezclar.
2. Dispensar 100 microlitros de los controles y de las muestras en los pocillos de las placas de microtitulación.
3. Incubar a 37° C durante 30 minutos.
4. Aspirar el contenido de cada pocillo y lavar 5 veces con 200 microlitros (cada vez) de solución de lavado.
5. Añadir a cada pocillo 100 microlitros de conjugado.
6. Incubar a 37° c 30 minutos.
7. Aspirar el contenido de cada pocillo y lavar 5 veces con 200 microlitros (cada vez) de solución de lavado.
8. Añadir a cada pocillo 100 microlitros de sustrato (TMB).
9. Incubar a 37°C durante 15 minutos.
10. Parar la reacción añadiendo 100 microlitros de solución de parada a cada pocillo.
11. Leer la absorbancia a una longitud de onda de 450 nm.

CONTROL DE CALIDAD:

Valor de absorbancia del blanco: < 0,150

Valor de absorbancia del control punto de corte: 0,200 < cut-off < 0,800

Valor de absorbancia del control positivo: >1,5 x punto de corte

MATERIAL Y MÉTODOS

Cálculo del índice de positividad (IP):

IP= Absorbancia de la muestra/Absorbancia media punto de corte

Interpretación de los resultados:

Índice de positividad	Evaluación
<0,9	Negativo
0,9 a 1,1	Borderline
>1,1	Positivo

3.2. Protocolo EIA *Toxocara*. Medida de IgE específica.

Se utilizaron como fase sólida las placas de TEST-LINE CLINICAL DIAGNOSTICS sensibilizadas con los antígenos de *Toxocara*. Para la determinación de la IgE específica se siguió el procedimiento normalizado de trabajo (PNT) del laboratorio.

1. Añadir 100 microlitros de cada suero problema sin diluir a los pocillos seleccionados.
2. Incubar en cámara húmeda durante 2 horas a 37°C.
3. Aspirar el contenido de los pocillos y lavar las placas 5 veces con 200 microlitros/pocillo de solución de lavado.
4. Diluir el conjugado anti-IgE FITC en relación 1/10 en tampón de dilución y añadir 100 microlitros/pocillo. Incubar en cámara húmeda durante 1 hora a 37°C.
5. Lavar la placa como en el paso 3.
6. Diluir el conjugado anti-FITC-HRP 1/10 en tampón de dilución y añadir 100 microlitros/pocillo. Incubar durante 1 h a 37°C en cámara húmeda.
7. Lavar como en el paso 3.
8. Añadir 100 microlitros de la solución cromógeno (ODP) a cada pocillo. Incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente y en ausencia de luz.

MATERIAL Y MÉTODOS

9. Añadir 25 microlitros/pocillo de solución de parada.
10. Leer la absorbancia a una longitud de onda de 492 nm.

3.3. Protocolo inmunotransferencia IgG *Toxocara*. TEST-LINE CLINICAL DIAGNOSTICS.

MATERIALES:

Tiras de PVDF transferidas con los antígenos de L2 de *T. canis*.

Control Negativo: Suero humano sin anticuerpos anti *T. canis*.

Control positivo: Suero humano con anticuerpos anti *T. canis*.

Conjugado: IgG de cabra anti IgG humana conjugada a peroxidasa.

Sustrato: BCIP/NBT.

Solución de lavado.

MÉTODO:

1. Pipetear 2 ml de solución de lavado en cada pocillo y colocar las tiras de PVDF. Incubar 10 minutos a temperatura ambiente.
2. Retirar la solución de lavado y añadir a cada pocillo 1,5 ml de las muestras de suero diluidas en relación 1:200 e incubar 1 hora a temperatura ambiente y agitación.
3. Retirar las muestras y lavar 3 veces durante 5 minutos con 1,5 ml de solución de lavado.
4. Retirar la solución de lavado y añadir 1,5 ml del conjugado a cada tira. Incubar 1 hora a temperatura ambiente y en agitación.
5. Retirar el conjugado y lavar 3 veces con 1,5 ml de solución de lavado durante 5 minutos.
6. Añadir 1,5 ml de Solución sustrato a cada pocillo e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente y en agitación.
7. Retirar el sustrato y lavar dos veces cada tira con 2 ml de agua destilada durante 5 minutos.
8. Recoger las tiras y dejar secar.
9. Evaluar los resultados.

EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS.

La prueba es evaluada como positiva si las bandas correspondientes a los antígenos altamente específicos están presentes. Estas bandas se corresponden con los antígenos del triplete de la banda de 120 kDa, la banda de 32 kDa y la banda de 26 kDa.

La prueba es evaluada como negativa si únicamente se detecta alguna banda (no las tres a la vez) correspondiente a los antígenos de alta especificidad, o si se detecta alguno de los antígenos de baja especificidad que se corresponden con antígenos de peso molecular: 70 kDa, 55 kDa y 40 kDa.

3.4. Protocolo inmunotransferencia IgE *Toxocara*.

Se utilizaron los antígenos transferidos a membrana procedentes del kit BLOT IgG *Toxocara* de TEST-LINE CLINICAL DIAGNOSTICS y se siguió el PNT del laboratorio para la determinación de la IgE específica.

MATERIALES:

Tiras de PVDF transferidas con los antígenos de L2 de *T. canis*.

Control Negativo: Suero humano sin anticuerpos anti *T. canis*.

Control positivo: Suero humano con anticuerpos anti *T. canis*.

Conjugado: IgG monoclonal de ratón anti-IgE humana conjugada a peroxidasa (SouthBiotech).

Revelado por Quimioluminiscencia (ECL plus).

MÉTODO:

1. Pipetear 2 ml de solución de lavado en cada pocillo y colocar las tiras de PVDF. Incubar 10 minutos a temperatura ambiente.
2. Retirar la solución de lavado y añadir a cada pocillo 1,5 ml de las muestras de suero sin diluir e incubar toda la noche a 4°C y agitación.
3. Retirar las muestras y lavar 3 veces durante 5 minutos con 1,5 ml de solución de lavado.

MATERIAL Y MÉTODOS

4. Retirar la solución de lavado y añadir 1,5 ml del conjugado una dilución 1:10.000 a cada tira. Incubar 1 hora a temperatura ambiente y en agitación.
5. Retirar el conjugado y lavar 3 veces con 1,5 ml de solución de lavado durante 5 minutos.
6. Añadir 100 microlitros de Solución sustrato (ECL plus) a cada tira. Incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente. Capturar la imagen mediante el sistema CHEMI-DOC XR.

3.5. Protocolo EIA Anis 1 y Anis 7. Medida de IgG específica.

Se utilizaron como fase sólida las placas de TRISAKIS 170 (Lab. Parasitología. Fac- Farmacia. Universidad de Santiago) sensibilizadas con los antígenos de *Anisakis*. Para la determinación de la IgG específica se siguió el PNT del laboratorio.

MATERIALES:

Solución amortiguadora para diluir las muestras.

Conjugado: IgG (de origen animal) anti IgG humana conjugada a Peroxidasa (SIGMA).

Sustrato: TMB/H₂O₂.

Solución de lavado.

Solución de parada: Ácido sulfúrico 1M.

MÉTODO:

1. Diluir las muestras 1:100 en tampón de dilución y mezclar.
2. Dispensar 100 microlitros de los controles y de las muestras en los pocillos de las placas de microtitulación.
3. Incubar a 37° C durante 30 minutos.
4. Aspirar el contenido de cada pocillo y lavar 5 veces con 200 microlitros (cada vez) de solución de lavado.

MATERIAL Y MÉTODOS

5. Añadir a cada pocillo 100 microlitros de conjugado a una dilución 1:2500.
6. Incubar a 37°C 30 minutos.
7. Aspirar el contenido de cada pocillo y lavar 5 veces con 200 microlitros (cada vez) de solución de lavado.
8. Añadir a cada pocillo 100 microlitros de sustrato (TMB).
9. Incubar a 37°C durante 15 minutos.
10. Parar la reacción añadiendo 100 microlitros de solución de parada a cada pocillo.
11. Leer la absorbancia a una longitud de onda de 450 nm.

3.6. Protocolo EIA IgE Anis 1 Anis 7 (TRISAKIS 170. Lab. Parasitología. Fac- Farmacia. Universidad de Santiago).

1. Añadir 100 microlitros de cada suero problema sin diluir a los pocillos seleccionados.
2. Incubar en cámara húmeda durante 2 horas a 37°C.
3. Aspirar el contenido de los pocillos y lavar las placas 5 veces con 200 microlitros/pocillo de solución de lavado.
4. Diluir el conjugado anti-IgE FITC en relación 1/10 en tampón de dilución y añadir 100 microlitros/pocillo. Incubar en cámara húmeda durante 1 hora a 37°C.
5. Lavar la placa como en el paso 3.
6. Diluir el conjugado anti-FITC-HRP 1/10 en tampón de dilución y añadir 100 microlitros/pocillo. Incubar durante 1 hora a 37°C en cámara húmeda.
7. Lavar como en el paso 3.
8. Añadir 100 microlitros de la solución cromógeno (ODP) a cada pocillo. Incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente y en ausencia de luz.
9. Añadir 25 microlitros/pocillo de solución de parada.
10. Leer la absorbancia a una longitud de onda de 492 nm.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

Las muestras son consideradas positivas si las absorbancias calculadas son mayores que 0,09 para Anís 1 y mayores de 0,05 para Anís 7.

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Las variables cualitativas se han expresado como números y porcentajes y las variables cuantitativas se han representado como media \pm desviación estándar. La comparación entre variables cualitativas se ha realizado utilizando la prueba Chi-Cuadrado y el estadístico de Fisher en el caso de tablas 2x2. El nivel de significación estadístico considerado ha sido del 5%.

Los datos a analizar se han incluido por una sola persona en una base de datos creada en formato Excel® 2003 para Windows®.

El análisis estadístico se ha realizado utilizando el programa estadístico SPSS® (*Statistical Package for Social Sciences*) versión 21 en español.

RESULTADOS

RESULTADOS

1. POBLACIÓN GENERAL (DONANTES SANOS).

Tamaño muestral: 123 individuos de población general.

Características: este grupo no presentó clínica respiratoria ni dermatológica.

El 32% de los individuos presentó sensibilización a aeroalérgenos comunes.

2. POBLACIÓN ALÉRGICA.

Tamaño muestral: 277 individuos de población atópica.

Características: este grupo presentó sensibilización cutánea a aeroalérgenos comunes y clínica respiratoria y/o cutánea.

La edad media de esta población fue de 39,56 +/- 12,39 años con un rango comprendido entre los 17 y los 72 años.

3. DATOS GENERALES DE FILIACIÓN.

3.1. Distribución por sexo.

Se estudió un total de 277 pacientes distribuidos en 174 mujeres (edad media=39,06 años) y 103 hombres (edad media=38,43 años).

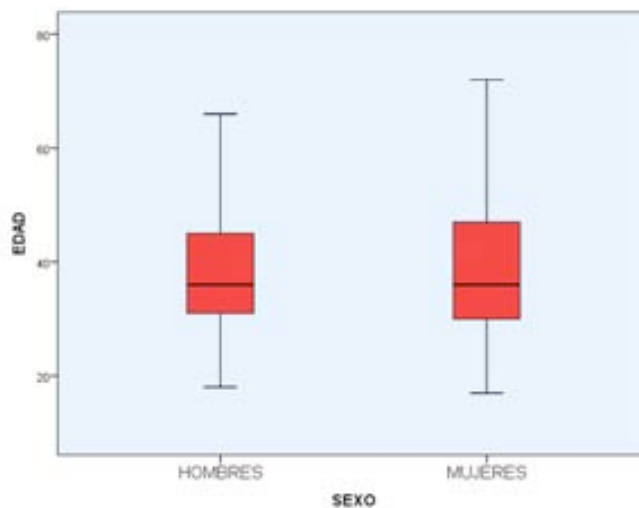


Figura 9. Distribución de la edad en años de los sujetos en función del sexo.

RESULTADOS

En cuanto a la relación entre sensibilización a *Toxocara* y distribución por sexo se encontraron diferencias significativas ($p=0,01$) entre hombres (20,2%) y mujeres (7,1%), a diferencia de lo que se observó en *Anisakis* ($p=0,067$) donde se obtuvo una sensibilización del 44,6% en hombres y del 39% en mujeres.

3. 2. Origen de la población y relación con *Toxocara canis*.

Se obtuvo una población de pacientes españoles del 77% frente a un 23% de población inmigrante (definida como sujetos con residencia en España por un tiempo inferior a 5 años) (Figura 10). Dentro de este grupo de inmigrantes se detectaron pruebas positivas a *Toxocara* en un 43,4% con diferencias significativas ($p=0,000$) comparado con la población autóctona (3,6%).

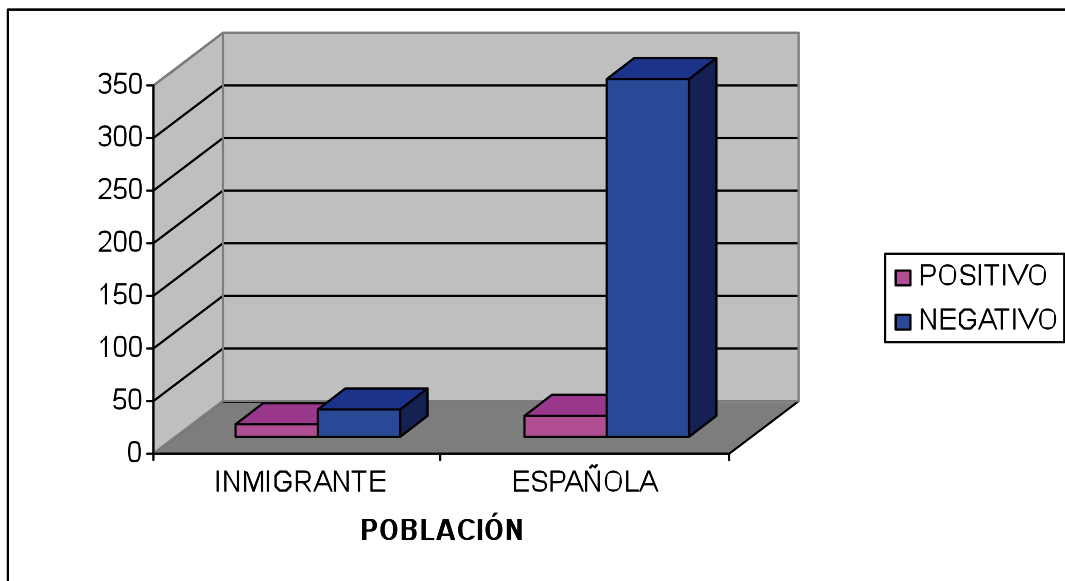


Figura 10. Relación entre la nacionalidad de la población y positividad del estudio de *Toxocara canis*.

RESULTADOS

3.3. Hábitat de la población y relación con *Toxocara canis*.

Así mismo, se tuvo en consideración el hábitat de la población estudiada diferenciando el grupo de individuos que vivía en zona urbana que fue del 94% comparado con el grupo que lo hacía en zona rural que fue del 6% (Figura 11). Tan solo un paciente del área rural mostró pruebas positivas a *Toxocara*, sin que se pudieran observar diferencias significativas en comparación con los habitantes de la región urbana ($p > 0,05$).

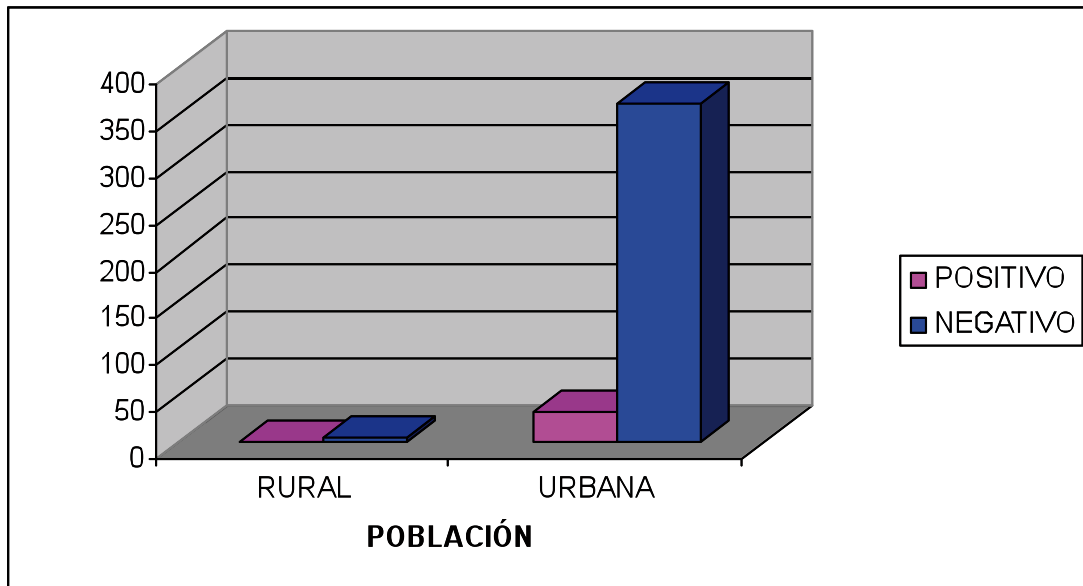


Figura 11. Relación entre el hábitat de la población y positividad del estudio de *Toxocara canis*.

3.4. Presencia de geofagia.

Ninguno de nuestros pacientes, manifestó hábito de geofagia.

3.5. Contacto con animales y relación con *Toxocara canis*.

Al analizar cuántos de nuestros pacientes tenía contacto habitual con animales nos encontramos que un 20,5% convivía con animales frente a un 79,5% que no lo hacía (Figura 12) y cuando los separábamos en función del tipo de animal al cual estaban expuestos un 52,5% de pacientes tenía solamente perro, un 34,1% sólo gato y un 13,4% tenía perro y gato en el mismo domicilio (Figura 13).

De todos los pacientes que mantenían contacto habitual con animales tan solo el 4,8% presentó pruebas positivas a *Toxocara*, sin que se observaran diferencias significativas al compararlos con los individuos que no convivían con animales ($p > 0,05$) (Figura 14).

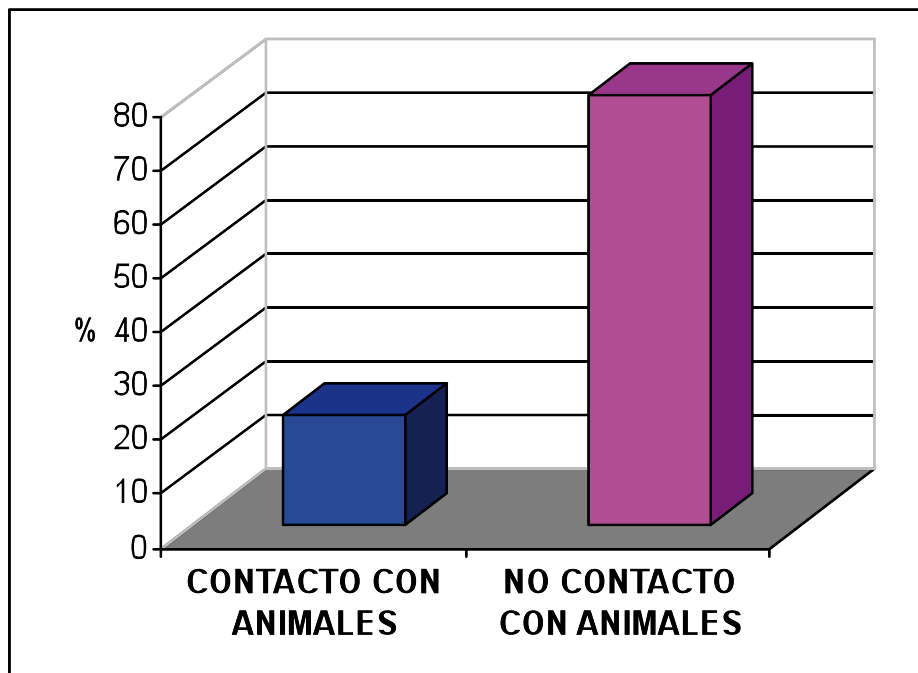


Figura 12. Porcentaje de pacientes y contacto habitual con animales.

RESULTADOS

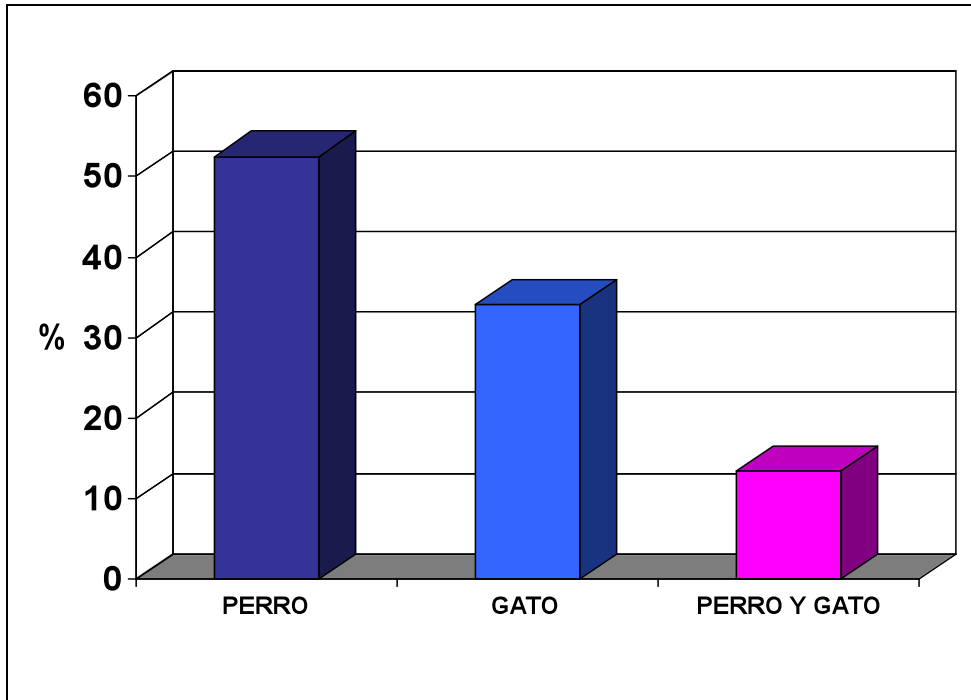


Figura 13. Porcentaje de pacientes que presentaba contacto con perro y/o gato en domicilio.

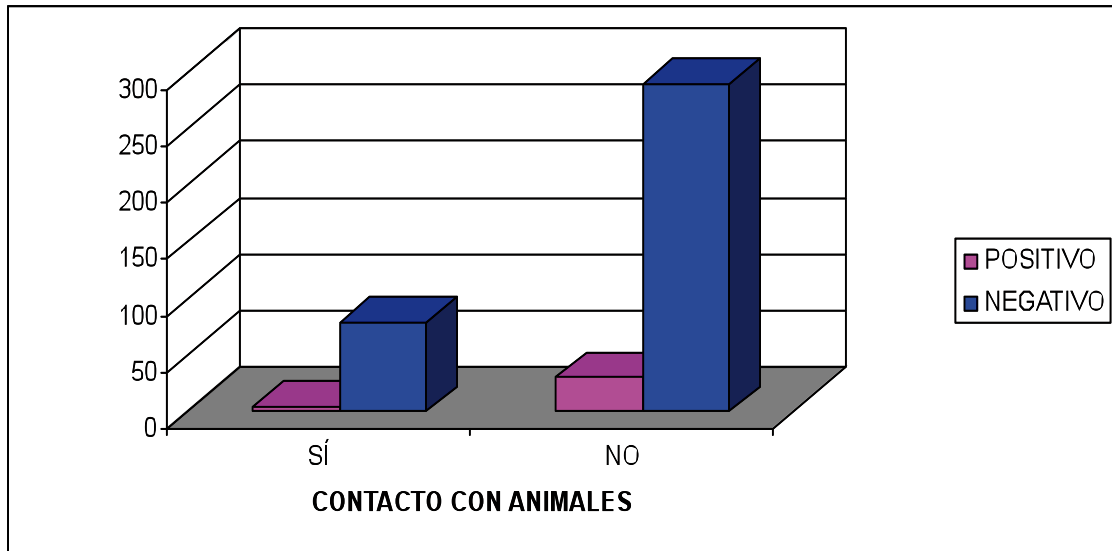


Figura 14. Relación entre el contacto habitual con animales y la positividad del estudio de *Toxocara canis*.

RESULTADOS

4. PARÁMETROS ANALÍTICOS EN LA POBLACIÓN ALÉRGICA.

El total de la población alérgica definida de esta manera, mostró pruebas cutáneas positivas al menos con uno de los extractos alergénicos ensayados (Tabla 3).

	Ácaros	Hongos	Pólenes	Epitelios
	35	5,5	53,5	22,5
Positivos a 1 grupo	37			
Positivos a 2 grupos	18			
Positivos a 3 grupos	12			
Positivos a 4 grupos	2,5			

Tabla 3. Pacientes positivos a extractos alergénicos expresado en porcentaje.

4.1. Proteína catiónica del eosinófilo (ECP).

Si establecemos como valor normal de la ECP hasta 15,00 µg/L según indicaciones de la casa comercial, encontramos una elevación de dicha proteína en un 69,5% de nuestros pacientes.

Utilizando los valores normales calculados por Valero [105], en una población general localizada en el mismo entorno que la estudiada en el presente proyecto (<29 µg/L), encontramos un 34 % de la población con ECP elevada.

El 21,4 % los pacientes seropositivos a *Toxocara* presentaron valores elevados de ECP (>29 µg/L), mientras que 37,2 % de los sujetos seronegativos a *Toxocara* presentaron valores elevados de ECP (>29 µg/L).

No existe significación estadística entre valores positivos a ECP y seropositividad a *Toxocara* (p=0,135).

El 41,09% de los pacientes seropositivos a *Anisakis* presentaron valores elevados de ECP (>29 µg/L), mientras que 31,5% de los seronegativos a *Anisakis* presentaron valores elevados de ECP (>29 µg/L).

RESULTADOS

No existe significación estadística entre valores positivos a ECP y seropositividad a *Anisakis* ($p=0,218$).

El 43% de los pacientes seropositivos a alguno de los parásitos ascáridos estudiados presentaron valores positivos de ECP ($>29 \mu\text{g/L}$).

No existe significación estadística entre valores positivos a ECP y seropositividad a los ascáridos estudiados ($p=0,163$).

El 44% de los pacientes con urticaria revelaron valores altos de ECP ($>29 \mu\text{g/L}$). Igualmente el 45% de los pacientes con urticaria y seropositividad a los ascáridos estudiados revelaron valores altos de ECP ($>29 \mu\text{g/L}$).

La correlación entre el grupo de sujetos con valores de altos de ECP ($>29 \mu\text{g/L}$) y con urticaria mostró una $p=0,005$.

La correlación entre el grupo de sujetos con valores de altos de ECP ($>29 \mu\text{g/L}$) y con urticaria más seropositividad frente a los parásitos ascáridos estudiados mostró una $p=0,75$.

4.2. Eosinofilia periférica.

La eosinofilia en sangre periférica se considera elevada por encima de un recuento superior a 500 eosinófilos por mm^3 y se observó en el 5% de los individuos.

4.3. IgE total.

El valor de la IgE total se consideró elevado por encima de 100 U/mL utilizando como valores de referencia los suministrados por la casa comercial (Thermophisher®, Upsala, Suecia). Nuestra muestra mostró un 61% de individuos con valores de IgE superiores a los considerados como valores normales.

4.4. IgE específica.

El valor de IgE específica (CAP) se consideró positivo por encima de 0,10 kU/l utilizando como valores de referencia los suministrados por la casa comercial (Thermophisher®, Upsala, Suecia).

RESULTADOS

4.5. Parásitos en heces.

La presencia de parásitos en heces se obtuvo en un 2,5% de los pacientes que presentaban urticaria aguda (1 único paciente) y en un 9,3% de los pacientes afectados de urticaria crónica (5 pacientes).

En todos los casos el agente etiológico identificado fue *Blastocystis hominis*.

5. RESUMEN GRÁFICO DE SENSIBILIZACIÓN.

En los dos apartados que se describen a continuación se resumen de forma gráfica la distribución de sujetos atópicos y no atópicos así como la de pacientes con y sin urticaria dentro de los grupos en estudio.

5.1. POBLACIÓN GENERAL.

La figura 15 muestra que el porcentaje de sujetos atópicos en la población general es del 32%.

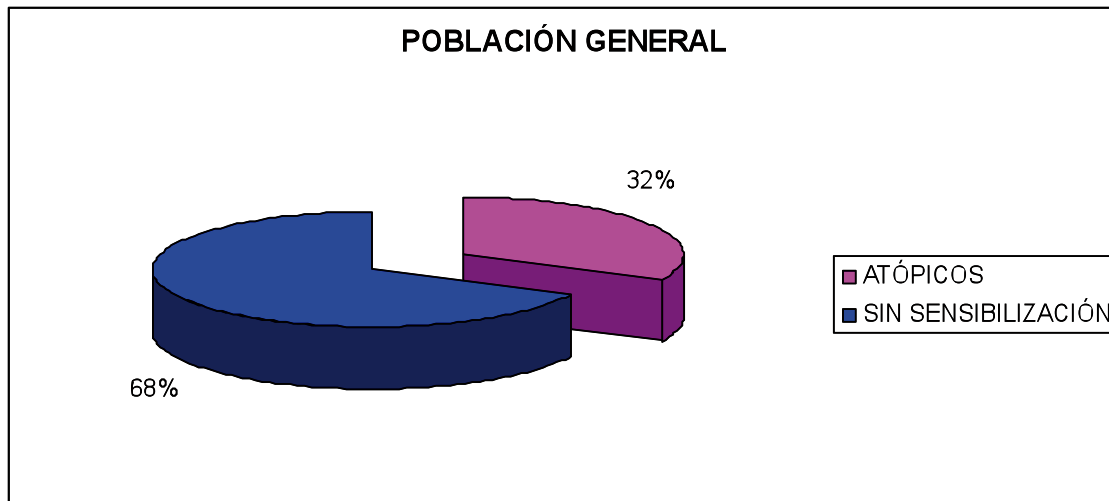


Figura 15. Porcentaje de sujetos atópicos en la población general o control.

En esta misma población se puede observar que el porcentaje de seropositivos por IgE y/o IgG es de 17% para *Anisakis simplex* y de 7% para *Toxocara canis* (figura 16).

RESULTADOS

La prevalencia de seropositividad por *Anisakis* en la población general fue del 13% cuando se utilizó el parámetro de medida IgG específica y del 4,1% cuando se evaluó mediante IgE específica.

La prevalencia de seropositividad por *Toxocara* en la población general fue del 3,25% cuando se utilizó el parámetro de medida IgG específica y del 6,5% cuando se evaluó mediante IgE específica.

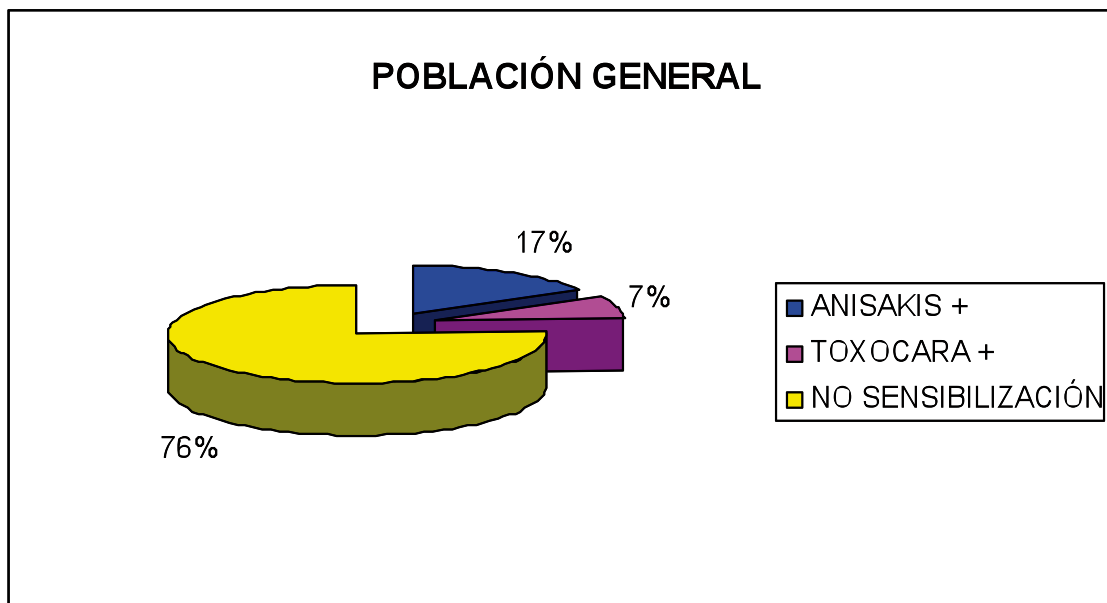


Figura 16. Porcentaje de sensibilización por anticuerpos antiparasitarios en la población general.

5.2. POBLACIÓN ALÉRGICA.

La muestra de pacientes alérgicos mostró un 34% de sujetos que a su vez padecían urticaria frente al 66% que no reveló estas formas clínicas. (Figura 17).

La población de sujetos alérgicos que no presentaron urticaria mostraron porcentajes de seropositividad (IgG y/o IgE) del 26% para *Anisakis simplex* y del 9% para *Toxocara canis* (Figura 18).

RESULTADOS

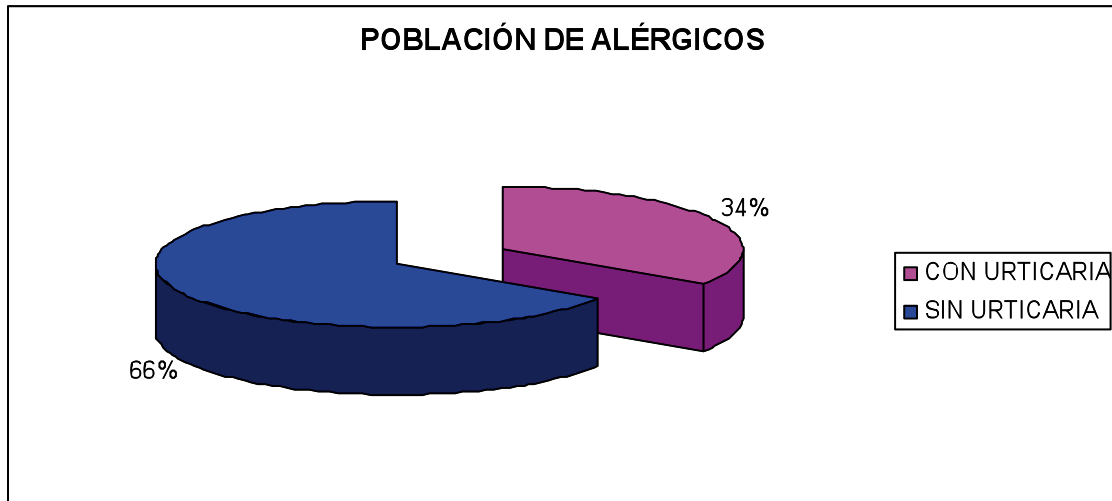


Figura 17. Porcentaje de pacientes con urticaria en la población alérgica.

La prevalencia de seropositividad por *Anisakis* en la población de pacientes alérgicos sin urticaria fue del 17% cuando se utilizó el parámetro de medida IgG específica y del 15% cuando se evaluó mediante IgE específica.

La prevalencia de seropositividad por *Toxocara* en la población de pacientes alérgicos sin urticaria fue del 5,5% cuando se utilizó el parámetro de medida IgG específica y del 7% cuando se evaluó mediante IgE específica.

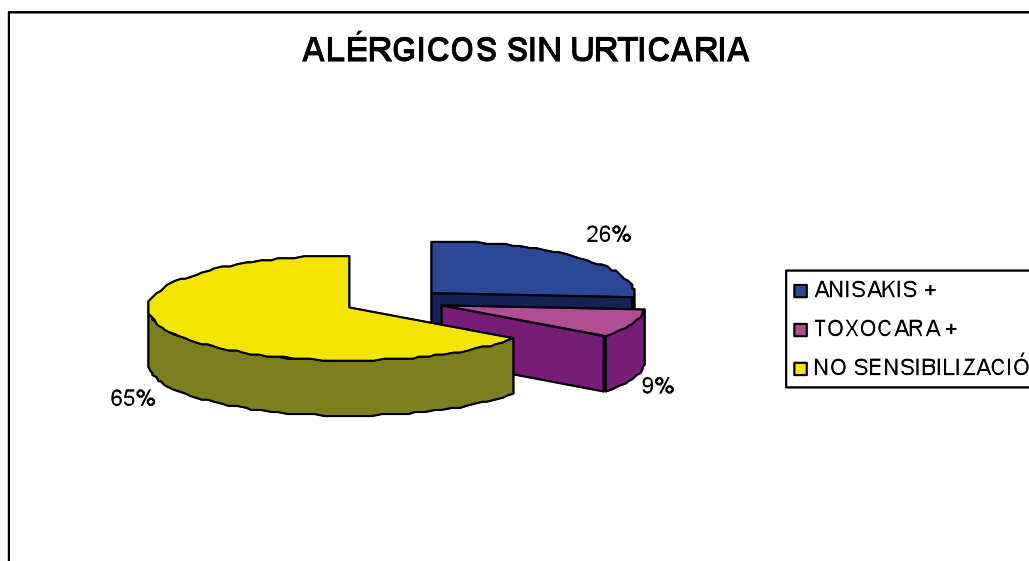


Figura 18. Porcentaje de sensibilización por anticuerpos antiparasitarios en sujetos alérgicos sin urticaria.

RESULTADOS

La población de sujetos alérgicos que presentaban urticaria mostraron porcentaje de seropositividad (IgG y/o IgE) del 59% para *Anisakis simplex* y del 16% para *Toxocara canis* (Figura 19).

La prevalencia de seropositividad por *Anisakis* en la población de pacientes alérgicos con urticaria fue del 21,5% cuando se utilizó el parámetro de medida IgG específica y del 25,5% cuando se evaluó mediante IgE específica.

La prevalencia de seropositividad por *Toxocara* en la población de pacientes alérgicos con urticaria fue del 6% cuando se utilizó el parámetro de medida IgG específica y de 8% cuando se evaluó mediante IgE específica.

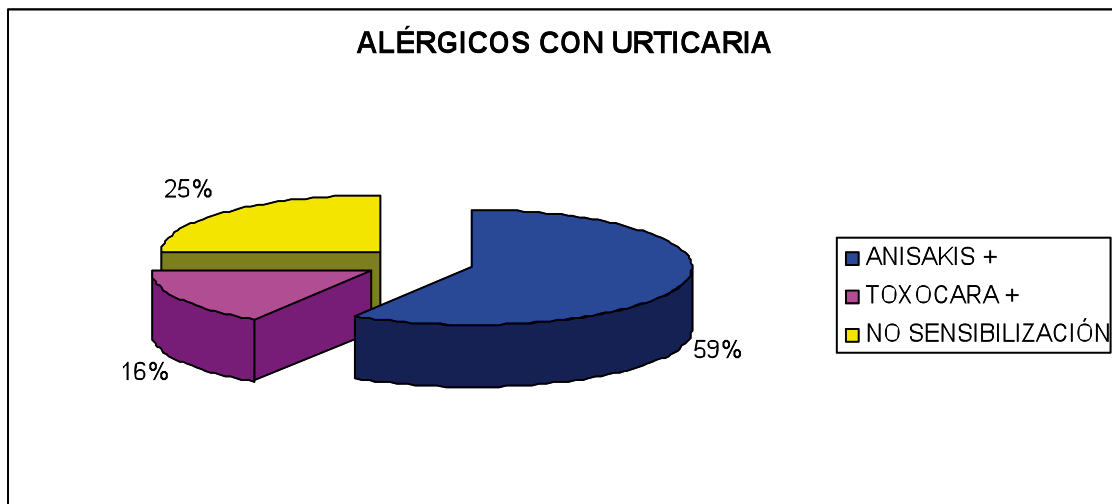


Figura 19. Porcentaje de sensibilización por anticuerpos antiparasitarios en sujetos alérgicos con urticaria.

RESULTADOS

6. COMPARACIÓN DE LOS GRUPOS DE POBLACIONES ESTUDIADAS EN BASE A LA PREVALENCIA.

6.1. Determinación de IgG específica frente a *Toxocara*.

En la tabla 4 se muestran los resultados de prevalencia de toxocarosis en los grupos de poblaciones estudiadas mediante la determinación de IgG específica y en la tabla 5 los valores de significación (valor p) obtenidos tras el análisis estadístico.

Como se puede observar (tabla 4), el valor más alto de prevalencia se obtuvo para la población de individuos no alérgicos con urticaria aguda (7,69%), mientras que la prevalencia en la población control (no alérgicos sin urticaria) este valor fue del 3,25%. Sin embargo, el análisis estadístico (tabla 5), no pudo mostrar diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ninguno de los grupos analizados.

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NAcUag	NAcUcr
%	5,88	5,49	4,55	3,25	5,26	7,5	3,64	7,41	4,17	7,69	3,23
n	51	182	44	123	95	40	55	27	24	13	31

Tabla 4. Prevalencia de toxocarosis (seroprevalencia) en los grupos estudiados (IgG frente a *Toxocara*).

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NAcUag	NAcUcr
AU	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
AsU	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
nAcU	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
nAsU	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p=0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Uag+Ucr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p=0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Uag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Ucr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05		nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
AcUag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05
AcUcr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05
NAcUag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05
NAcUcr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd

Tabla 5: Toxocarosis. Resultados del estudio estadístico. Comparación entre los grupos estudiados en base a los datos de seroprevalencia medida a través de IgG específica.

RESULTADOS

6.2. Determinación de IgE específica frente a *Toxocara*.

En la tabla 6 se muestran los resultados de prevalencia de toxocarosis en los grupos de poblaciones estudiadas mediante la determinación de IgE específica y en la tabla 7 los valores de significación (valor p) obtenidos tras el análisis estadístico.

Como se puede apreciar (tabla 6), los valores más elevados de prevalencia se muestran en el grupo de individuos no alérgicos con urticaria aguda (23,08%), mientras que en el grupo de individuos no alérgicos sin urticaria, este valor fue del 6,5%.

Al igual que en el apartado anterior, el análisis estadístico no mostró diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los grupos analizados.

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NAcUag	NAcUcr
%	7,84	7,14	15,91	6,5	11,58	12,5	10,91	7,41	8,33	23,08	12,9
n	51	182	44	123	95	40	55	27	24	13	31

Tabla 6. Prevalencia de toxocarosis (seroprevalencia) en los grupos estudiados (IgE frente a *Toxocara*).

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NAcUag	NAcUcr
AU	nd	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
AsU	$p > 0,05$	nd	$p = 0,07$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p = 0,07$	$p > 0,05$
nAcU	$p > 0,05$	$p = 0,07$	nd	$p = 0,07$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
nAsU	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p = 0,07$	nd	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p = 0,07$	$p > 0,05$
Uag+Ucr	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	nd	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
Uag	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	nd	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
Ucr	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	nd	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
AcUag	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	nd	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
AcUcr	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	nd	$p > 0,05$	$p > 0,05$
NAcUag	$p > 0,05$	$p = 0,07$	$p > 0,05$	$p = 0,07$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	nd	$p > 0,05$
NAcUcr	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	nd

Tabla 7: Toxocarosis. Resultados del estudio estadístico. Comparación entre los grupos estudiados en base a los datos de seroprevalencia medida a través de IgE específica.

RESULTADOS

6.3. Determinación de IgG específica frente a *Anisakis*.

En la tabla 8 se muestran los resultados de prevalencia de anisakiosis en los grupos de poblaciones estudiadas mediante la determinación de IgG específica y en la tabla 9 los valores de significación (valor p) obtenidos tras el análisis estadístico.

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NAcUag	NAcUcr
%	21,57	17,03	36,36	13,01	28,42	22,5	32,73	18,52	25	30,77	38,71
n	51	182	44	123	95	40	55	27	24	13	31

Tabla 8: Prevalencia de anisakiosis (seroprevalencia) en los grupos estudiados (IgG frente a *Anisakis*).

Como se puede apreciar (tabla 8), entre los valores más elevados de prevalencia se muestra el grupo de individuos no alérgicos con urticaria (36,36%), si bien, la prevalencia más elevada se detecta en el grupo de individuos no alérgicos con urticaria crónica (38,71%). En cuanto al grupo control, individuos no alérgicos sin urticaria, esta prevalencia fue del 13,01% y en este caso, sí se pudieron establecer diferencias significativas entre algunos de los grupos estudiados (tabla 9, color amarillo).

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NAcUag	NAcUcr
AU	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
AsU	p>0,05	nd	p<0,05	p>0,05	p=0,06	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05
nAcU	p>0,05	p<0,05	nd	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
nAsU	p>0,05	p>0,05	p<0,05	nd	p<0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p=0,07	p<0,05
Uag+Ucr	p>0,05	p=0,06	p>0,05	p<0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Uag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Ucr	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
AcUag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05
AcUcr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05
NAcUag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p=0,07	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05
NAcUcr	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd

Tabla 9: Anisakiosis. Resultados del estudio estadístico. Comparación entre los grupos estudiados en base a los datos de seroprevalencia medida a través de IgG específica.

RESULTADOS

Es de destacar que la determinación de IgG específica frente a *A. simplex*, discrimina entre individuos alérgicos sin urticaria y las poblaciones de individuos no alérgicos con urticaria, las urticarias crónicas y las de no alérgicos con urticaria crónica. Además, existen diferencias significativas entre los grupos de pacientes no alérgicos sin urticaria y los no alérgicos con urticaria, las urticarias totales, las urticarias crónicas y los no alérgicos con urticaria crónica.

6.4. Determinación de IgE específica frente a *Anisakis*.

En la tabla 10 se muestran los resultados de prevalencia de anisakiosis en los grupos de poblaciones estudiadas mediante la determinación de IgE específica y en la tabla 11 los valores de significación (valor p) obtenidos tras el análisis estadístico.

Como se puede apreciar (tabla 10), entre los valores más elevados de prevalencia se muestra el grupo de individuos no alérgicos con urticaria (43,18%), si bien, la prevalencia más elevada se detecta en el grupo de individuos no alérgicos con urticaria aguda (61,54%). En cuanto al grupo control, individuos no alérgicos sin urticaria, esta prevalencia fue del 4,07% y en este caso, sí se pudieron establecer diferencias significativas entre algunos de los grupos estudiados (tabla 11, color amarillo).

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NAcUag	NAcUcr
%	25,49	14,84	43,18	4,07	33,68	35,7	30,91	25,93	25	61,54	35,48
n	51	182	44	123	95	40	55	27	24	13	31

Tabla 10. Prevalencia de anisakiosis (seroprevalencia) en los grupos estudiados (IgE frente a *Anisakis*).

La determinación de IgE específica frente a *Anisakis* discrimina a los individuos no alérgicos sin urticaria (grupo control) de todas las demás poblaciones estudiadas. También se observan diferencias significativas entre el grupo de sujetos alérgicos en general y los no alérgicos con urticaria aguda. Y entre los alérgicos sin urticaria y los grupos de sujetos no alérgicos con urticaria, los que

RESULTADOS

presentan urticaria aguda y/o crónica y los individuos no alérgicos con urticaria aguda o crónica.

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NACUag	NACUcr
AU	nd	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05
AsU	p>0,05	nd	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05
nAcU	p>0,05	p<0,05	nd	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
nAsU	p<0,05	p<0,05	p<0,05	nd	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Uag+Ucr	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p<0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p=0,06	p>0,05
Uag	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Ucr	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p=0,05	p>0,05
AcUag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05
AcUcr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p<0,05	p>0,05
NACUag	p<0,05	p<0,05	p>0,05	p<0,05	p=0,06	p>0,05	p=0,05	p>0,05	p<0,05	nd	p>0,05
NACUcr	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd

Tabla 11: Anisakiosis. Resultados del estudio estadístico. Comparación entre los grupos estudiados en base a los datos de seroprevalencia medida a través de IgE específica.

6.5. Determinación de IgE específica frente a Ani s 7.

En la tabla 12 se muestran los resultados de prevalencia de anisakiosis en los grupos de poblaciones estudiadas mediante la determinación de IgE específica frente a Ani s 7 y en la tabla 13 los valores de significación (valor p) obtenidos tras el análisis estadístico.

Como se puede apreciar (tabla 12), entre los valores más elevados de prevalencia se muestra el grupo de individuos con urticaria aguda (17,5%), si bien, la prevalencia más elevada se detecta en el grupo de individuos no alérgicos con urticaria aguda (23,08%). En cuanto al grupo control, individuos no alérgicos sin urticaria, esta prevalencia fue del 4,35%. Sin embargo, el análisis estadístico (tabla 13), no pudo mostrar diferencias significativas ($p>0,05$) entre ninguno de los grupos analizados.

RESULTADOS

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NAcUag	NAcUcr
%	9,8	8,54	11,36	4,35	10,53	17,5	5,45	14,81	4,17	23,08	6,45
n	51	82	44	23	95	40	55	27	24	13	31

Tabla 12. Prevalencia de anisakiosis (seroprevalencia) en los grupos estudiados (IgE frente a Ani s 7).

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NAcUag	NAcUcr
AU	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
AsU	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
nAcU	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
nAsU	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Uag+Ucr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Uag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Ucr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p=0,07	p>0,05
AcUag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05
AcUcr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05
NAcUag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p=0,07	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05
NAcUcr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd

Tabla 13. Anisakiosis. Resultados del estudio estadístico. Comparación entre los grupos estudiados en base a los datos de seroprevalencia medida a través de IgE específica (anti-Ani s 7).

6.6. Determinación de IgG específica frente a Ani s 7.

En la tabla 14 se muestran los resultados de prevalencia de anisakiosis en los grupos de poblaciones estudiadas mediante la determinación de IgG específica frente a Ani s 7 y en la tabla 15 los valores de significación (valor p) obtenidos tras el análisis estadístico.

Como se puede apreciar (tabla 14), entre los valores más elevados de prevalencia se muestra el grupo de individuos alérgicos con urticaria aguda (7,41%), si bien, la prevalencia más elevada se detecta en el grupo de individuos no alérgicos con urticaria aguda (15,38%). En cuanto al grupo control, individuos no alérgicos sin urticaria, esta prevalencia fue del 13,04%. Al igual que ocurre en el grupo anterior, el análisis estadístico (tabla 15), no pudo

RESULTADOS

mostrar diferencias significativas ($p>0,05$) entre ninguno de los grupos analizados.

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NAcUag	NAcUcr
%	5,88	7,32	6,82	13,04	6,32	10	3,64	7,41	4,17	15,38	3,23
n	51	82	44	23	95	40	55	27	24	13	31

Tabla 14. Prevalencia de anisakiosis (seroprevalencia) en los grupos estudiados (IgG frente a Ani s 7).

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NAcUag	NAcUcr
AU	nd	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$
AsU	$p>0,05$	nd	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$
nAcU	$p>0,05$	$p>0,05$	nd	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$
nAsU	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	nd	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$
Uag+Ucr	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	nd	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$
Uag	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	nd	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$
Ucr	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	nd	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$
AcUag	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	nd	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$
AcUcr	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	nd	$p>0,05$	$p>0,05$
NAcUag	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	nd	$p>0,05$
NAcUcr	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	nd

Tabla 15. Anisakiosis. Resultados del estudio estadístico. Comparación entre los grupos estudiados en base a los datos de seroprevalencia medida a través de IgG específica (anti-Ani s 7).

6.7. Determinación de IgE frente a Ani s 1.

En la tabla 16 se muestran los resultados de prevalencia de anisakiosis en los grupos de poblaciones estudiadas mediante la determinación de IgE específica frente a Ani s 1 y en la tabla 17 los valores de significación (valor p) obtenidos tras el análisis estadístico.

Como se puede apreciar (tabla 16), entre los valores más elevados de prevalencia se muestra el grupo de individuos no alérgicos con urticaria (9,09%), si bien, la prevalencia más elevada se detecta en el grupo de individuos no alérgicos con urticaria aguda (15,38%). En cuanto al grupo

RESULTADOS

control, individuos no alérgicos sin urticaria, esta prevalencia fue del 1,63% y en este caso, sí se pudieron establecer diferencias significativas entre algunos de los grupos estudiados (tabla 17, color amarillo).

La determinación de IgE específica frente a Anis 1 discrimina entre los individuos no alérgicos sin urticaria (población general) y los sujetos de las poblaciones de no alérgicos con urticaria, las urticarias totales y los individuos no alérgicos con urticaria aguda.

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NAcUag	NAcUcr
%	5,88	4,4	9,09	1,63	7,37	7,5	7,27	3,7	8,33	15,38	6,45
n	51	182	44	123	95	40	55	27	24	13	31

Tabla 16. Prevalencia de anisakiosis (seroprevalencia) en los grupos estudiados (IgE frente a Anis 1).

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NAcUag	NAcUcr
AU	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
AsU	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
nAcU	p>0,05	p>0,05	nd	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
nAsU	p>0,05	p>0,05	p<0,05	nd	p<0,05	p>0,05	p=0,07	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05
Uag+Ucr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Uag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Ucr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p=0,07	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
AcUag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05
AcUcr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05
NAcUag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05
NAcUcr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd

Tabla 17. Anisakiosis. Resultados del estudio estadístico. Comparación entre los grupos estudiados en base a los datos de seroprevalencia medida a través de IgE específica (anti-Anis 1).

6.8. Determinación de IgG frente a Anis 1.

En la tabla 18 se muestran los resultados de prevalencia de anisakiosis en los grupos de poblaciones estudiadas mediante la determinación de IgG específica frente a Anis 1 y en la tabla 19 los valores de significación (valor p) obtenidos tras el análisis estadístico.

RESULTADOS

Como se puede apreciar (tabla 18), entre los valores más elevados de prevalencia se muestra el grupo de individuos no alérgicos con urticaria (15,91%), si bien, la prevalencia más elevada se detecta en el grupo de individuos no alérgicos con urticaria aguda (23,08%). En cuanto al grupo control, individuos no alérgicos sin urticaria, esta prevalencia fue del 3,25% y en este caso, sí se pudieron establecer diferencias significativas entre algunos de los grupos estudiados (tabla 19, color amarillo).

La determinación de IgG específica frente a Ani s 1 discrimina las poblaciones de sujetos no alérgicos sin urticaria (población general) y la mayoría de los otros grupos (alérgicos sin urticaria, no alérgicos con urticaria, urticaria aguda y/o crónica y los no alérgicos con urticaria aguda).

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NACUag	NACUcr
%	7,84	9,89	15,91	3,25	11,58	10	12,73	3,7	12,5	23,08	12,9
n	51	182	44	123	95	40	55	27	24	13	31

Tabla 18. Prevalencia de anisakiosis (seroprevalencia) en los grupos estudiados (IgG frente a Ani s 1).

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NACUag	NACUcr
AU	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
AsU	p>0,05	nd	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
nAcU	p>0,05	p>0,05	nd	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
nAsU	p>0,05	p<0,05	p<0,05	nd	p<0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p=0,08	p<0,05	p=0,05
Uag+Ucr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Uag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Ucr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
AcUag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p=0,09	p>0,05
AcUcr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p=0,08	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05
NACUag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p=0,09	p>0,05	nd	p>0,05
NACUcr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p=0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd

Tabla 19. Anisakiosis. Resultados del estudio estadístico. Comparación entre los grupos estudiados en base a los datos de seroprevalencia medida a través de IgG específica (anti-Ani s 1).

RESULTADOS

6.9. Determinación de IgG específica frente a tropomiosina.

En la tabla 20 se muestran los resultados de prevalencia de anisakiosis en los grupos de poblaciones estudiadas mediante la determinación de IgG específica frente a tropomiosina y en la tabla 21 los valores de significación (valor p) obtenidos tras el análisis estadístico.

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NAcUag	NAcUcr
%	5,88	1,65	2,27	0	4,21	2,5	5,45	3,7	8,33	0	3,23
n	51	182	44	123	95	40	55	27	24	13	31

Tabla 20. Prevalencia de anisakiosis (seroprevalencia) en los grupos estudiados (IgG frente a tropomiosina)

Como se puede apreciar (tabla 20), entre los valores más elevados de prevalencia se muestra el grupo de individuos alérgicos con urticaria (5,88%), si bien, la prevalencia más elevada se detecta en el grupo de individuos alérgicos con urticaria crónica (8,33%). En cuanto al grupo control, individuos no alérgicos sin urticaria, no se detectó tropomiosina. En este caso, sí se pudieron establecer diferencias significativas entre algunos de los grupos estudiados (tabla 21, color amarillo). La determinación de la IgG específica frente a tropomiosina discrimina entre los sujetos no alérgicos sin urticaria (población general) y los alérgicos con urticaria, las urticarias totales o crónicas y los alérgicos con urticaria crónica.

	AU	AsU	nAcU	nAsU	Uag+Ucr	Uag	Ucr	AcUag	AcUcr	NAcUag	NAcUcr
AU	nd	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
AsU	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
nAcU	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
nAsU	p<0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p<0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05
Uag+Ucr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Uag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Ucr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
AcUag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05	p>0,05
AcUcr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05	p>0,05
NAcUag	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd	p>0,05
NAcUcr	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	nd

Tabla 21. Anisakiosis. Resultados del estudio estadístico. Comparación entre los grupos estudiados en base a los datos de seroprevalencia medida a través de IgG específica (anti-tropomiosina).

RESULTADOS

7. RESULTADOS INMUNOTRANSFERENCIA.

La figura 20 muestra los resultados de la inmunotransferencia con los sueros de los sujetos seropositivos por **IgG e IgE** (ambas) a *Toxocara*.

En ella se muestra como la banda de alto peso molecular (120 kDa) es la que origina mayor número de respuestas duales (9 de los 9 sujetos seropositivos a *Toxocara*): componentes fijadores de IgG e IgE.

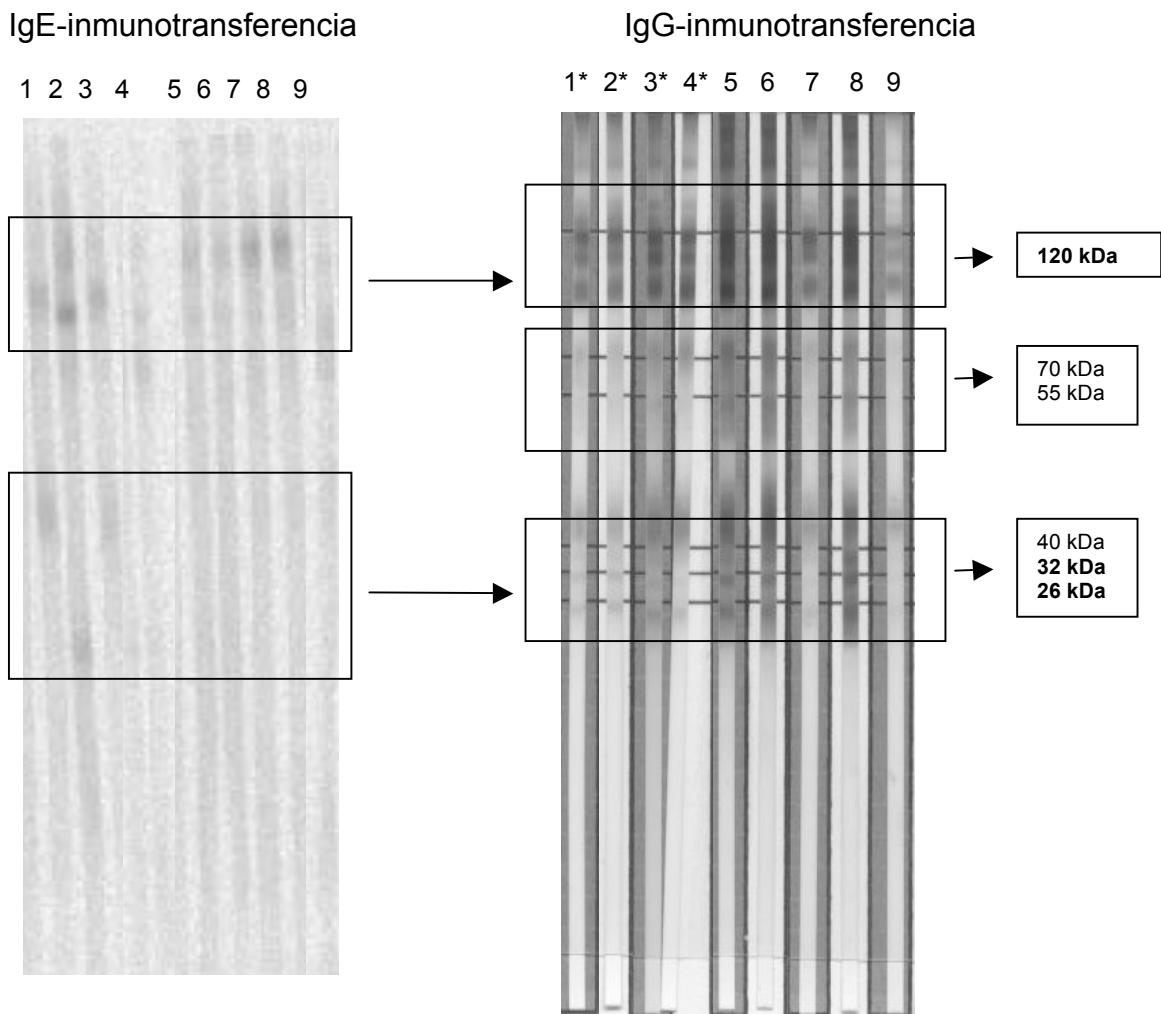


Figura 20. *T. canis*. SDS PAGE-IgE e IgG-inmunotransferencia con los sueros positivos frente a IgE e IgG específica

(*): Sueros que cumplen criterios de positividad para toxocarosis activa.

RESULTADOS

La figura 21 muestra los resultados de la inmunotransferencia con los sueros de los sujetos seropositivos por **IgE** a *Toxocara*.

En ella se muestra como las bandas de 120, 70, 40, 32 y 26 kDa son reveladas por el mayor número de individuos seropositivos por *Toxocara* a través de la IgE específica.

En la muestra estudiada, no se puede definir ningún componente como alérgeno mayor, dado que todos ellos se revelan en menos del 50% de dicha población.

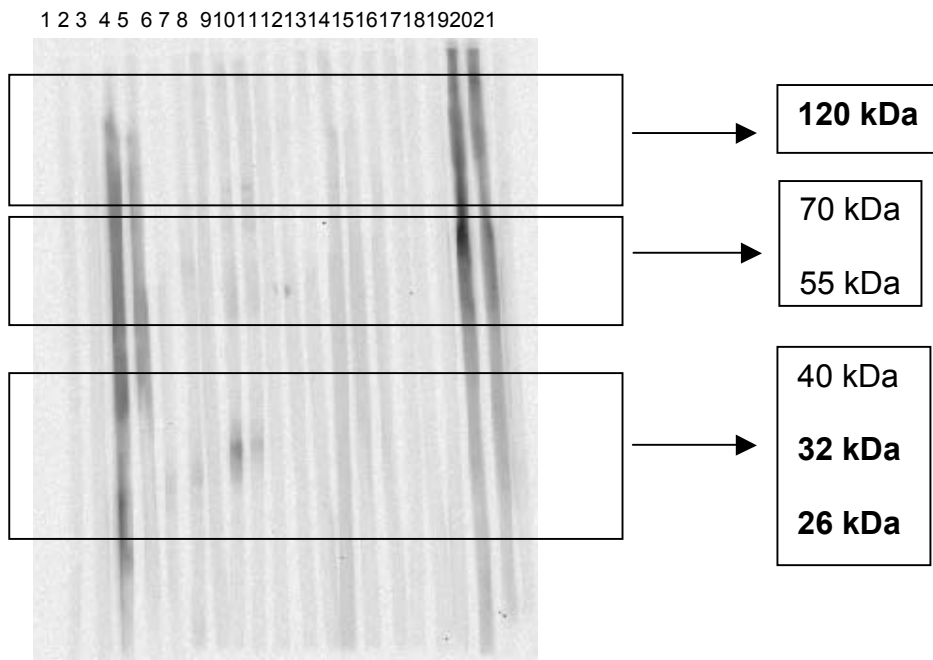


Figura 21. *T. canis*. SDS PAGE-IgE-inmunotransferencia con los sueros sólo positivos frente a IgE específica.

RESULTADOS

La figura 22 muestra los resultados de la inmunotransferencia con los sueros de los sujetos seropositivos por **IgG** a *Toxocara*.

En ella se muestra como la banda de 120, 70, 40, 32 y 26 kDa se revela por el mayor en todos lo individuos *Toxocara*-seropositivos a través de IgG específica. Los componentes de 40, 32 y 26 Kda sólo fueron revelados por la mitad de los individuos *Toxocara*-seropositivos a través de IgG específica.

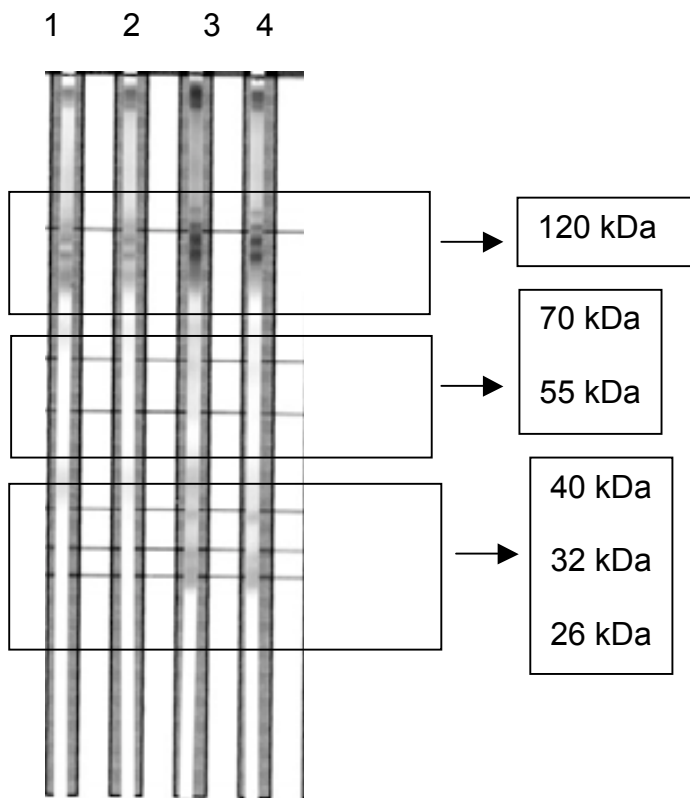


Figura 22. *T. canis*. SDS PAGE-IgG-inmunotransferencia con los sueros sólo positivos frente a IgG específica.

RESULTADOS

La tabla 22 muestra tanto el antigenograma (componentes fijadores de IgG) como el alergograma (componentes fijadores de IgE) correspondiente a los resultados obtenidos de los individuos seropositivos a *Toxocara* y con referencia a la expresión de la clínica de urticaria que presentaron.

POBLACIÓN	PM	IGG						IGE						
		120	70	55	40	32	26	120	70	55	40	32	26	
AsU	1													+
	2							+	+				+	
	3	+												
	4	+				+	+	+						
	5	+				+	+	+						
	6	+					+	+	+				+	
	7	+	+	+		+	+	+	+					
	8	+	+						+					
nAsU	9	+					+	+	+				+	
AcUag	10	+					+	+	+	+				+
	11	+	+	+		+	+	+	+					
NAcUag	12							+	+			+	+	+
	13	+					+	+	+	+				
AcUcr	14	+												
	15	+	+	+		+	+	+	+					
NAcUcr	16							+	+					
	17	+						+	+					

Tabla 22. *T. canis*. Resultados Inmunotransferencia. Representación esquemática del antigenograma y del alergograma.

AsU: alérgicos sin urticaria, nAsU: no alérgicos sin urticaria, AcUag: alérgicos con urticaria aguda, NAcUag: no alérgicos con urticaria aguda, AcUcr: alérgicos con urticaria crónica, NAcUcr: no alérgicos con urticaria crónica.

RESULTADOS

La tabla 23 muestra el porcentaje de individuos seropositivos a *Toxocara* que revelan anticuerpos IgE e IgG específicos en relación a presencia o ausencia de urticaria.

Se puede observar que el componente de 120 kDa se revela de forma mayoritaria tanto a través del isotipo de IgG como del isotipo IgE siempre con valores superiores al 50%, con independencia de la expresión o no de urticaria. Es el componente de 70 kDa y a través de la IgE, quien reacciona de forma mayoritaria (62,5%) en sujetos con urticaria.

Los componentes de 32 y 26 kDa, revelados con IgG, reaccionan con el 50% o más de los individuos con y sin urticaria, mientras que lo hacen con el 25% o menos de los sujetos con o sin urticaria estudiados por medio de la IgE específica.

	IgG	IgG	IgE	IgE
PM (kDa)	Sin urticaria	Con urticaria	Sin urticaria	Con urticaria
120	77,7	62,5	55,5	87,5
70	22,2	25	11,1	62,5
55	11,1	25	0	0
40	33,3	25	22,2	12,5
32	55,5	50	11,1	12,5
26	55,5	50	11,1	25

Tabla 23. *T. canis*. Antigenograma y alergograma. Porcentaje de individuos que revelan anticuerpos IgE e IgG específicos en relación a presencia o ausencia de urticaria.

DISCUSIÓN

Toxocara canis.

La toxocarosis es una parasitosis cosmopolita con mayor prevalencia en regiones templadas y tropicales del mundo. La exposición humana a la toxocarosis resulta, de la elevada prevalencia de esta parasitosis en perros y gatos, sus hospedadores definitivos, y del gran número de ellos que comparten hábitat con los seres humanos [64].

Los datos de seroprevalencia de que disponemos en nuestro país son muy heterogéneos puesto que van del 1% [66, 67] al 66% [66], en función del tipo de población estudiada, la edad de los individuos parasitados, el nivel socioeconómico de las muestras, las técnicas de medida, etc.

La comparación de dichos resultados a nivel práctico es muy difícil de interpretar debido a la diversidad de protocolos de estudio y las técnicas de identificación y medida empleadas.

La combinación de técnicas que revelan la respuesta IgE la respuesta IgG, ofrece más información inmunopatológica de la infección por *T. canis* en el hospedador humano. Así mismo, la mejoría en las técnicas diagnósticas ha permitido aumentar la sensibilidad y la especificidad al combinar las técnicas de ELISA e inmunotransferencia.

En este trabajo se ha estudiado el papel que juega el diagnóstico molecular con antígenos de *T. canis* en un total de 400 individuos: 277 de los cuales acudieron como primera visita a la Unidad de Alergia durante un periodo de 2 años y 123 correspondientes a donantes sanos del banco de sueros.

La urticaria crónica se define como la aparición espontánea de habones por lo menos durante 6 semanas y aguda la que dura menos de 48 horas [92]. En base a la clínica que referían los sujetos desde el punto de vista dermatológico (presencia de urticaria y tipo), la historia y el resultado obtenido en las pruebas cutáneas a aeroalérgenos comunes, los 400 pacientes que engloban el estudio se clasificaron en los siguientes grupos:

- No alérgicos sin urticaria o población general: 123 individuos.
- Alérgicos con urticaria (aguda y crónica): 51 individuos.
- Alérgicos sin urticaria: 182 individuos.
- No alérgicos con urticaria (aguda y crónica): 44 individuos.

DISCUSIÓN

- Urticarias totales (agudas y crónicas en alérgicos y no alérgicos): 95 individuos.
- Urticaria aguda: 40 individuos.
- Urticaria crónica: 55 individuos.
- Alérgicos con urticaria aguda: 27 individuos.
- No alérgicos con urticaria aguda: 13 individuos.
- Alérgicos con urticaria crónica: 24 individuos.
- No alérgicos con urticaria crónica: 31 individuos.

Según un estudio de Gaig y colaboradores realizado en 2004, se demostró una prevalencia de alergia, mediante pruebas cutáneas, del 21.6% en población general adulta española [93].

En cuanto a la evaluación del fenómeno atópico en general, se ha validado el método de la determinación de la IgE específica frente a alérgenos múltiples como una buena técnica estimando una prevalencia global de alergia en la población española del 30% al 40% [106]. En este parámetro, nuestro trabajo se ajusta a resultados ya citados, dado que la prevalencia en nuestra muestra control (población general) fue del 32%.

Es interesante tener en cuenta que se ha utilizado el Phadiatop® junto con la IgE específica a *Salsola* como herramienta para medir la alergia evitando sesgos, puesto que el Phadiatop® es una técnica que no incluye la determinación de la *Salsola*. A pesar de que en nuestra zona no hay *Salsola*, sí que está presente en otras regiones de donde procede parte de la muestra de población general aquí estudiada.

En el presente estudio la prevalencia de *Toxocara canis* (por IgG y/o IgE) en población general fue del 7%, un valor bastante más elevado que el obtenido en el trabajo de Valero que fue del 0.6% [105] o en el de Portús (0.6%) [107]. En cambio son inferiores a los resultados obtenidos por Fenoy [67] o González-Quintela [70] que muestran valores del 28% y 23% respectivamente también en población adulta. Estos autores sólo evaluaron valores de IgG específica.

Estas diferencias, encontradas entre nuestro estudio y los de los otros autores citados, podrían deberse a diferencias existentes entre el tipo de población y

DISCUSIÓN

los factores de riesgo (origen de población, contacto con animales, hábitat rural o urbano, etc.) a que están sujetas cada una de las poblaciones así como al hecho de que en este estudio se han evaluado más isotipos de inmunoglobulinas y se ha realizado diagnóstico por componentes.

En países industrializados, se pueden observar tasas de prevalencia de *T. canis* por debajo del 10% en general. Giacometti [108] en Italia obtiene valores del 8%, Stürcheler [109] en Suiza del 5%, Matsamura y Endo [110] en Japón del 4% y Van Knapen [111] en Holanda del 7% entre otros autores.

Por otro lado en países en vías de desarrollo los valores de seroprevalencia de la toxocarosis son mucho más elevados y en la mayoría de ocasiones son cifras que superan el 30%. Alonso [112] observa un 39% en Argentina, Espinoza [113] un 33% en Perú y Alderete [114] un 38% en Brasil entre otros autores.

La prevalencia del 7% obtenida (por IgE y/o IgG) en este trabajo está perfectamente integrada en los valores de los países industrializados de nuestro entorno.

A pesar de que el total de muestra correspondiente a población inmigrante es pequeña (46 individuos) si tenemos en cuenta la prevalencia de *T. canis* en dicha población (43,5%), ésta, fue claramente superior a la de la población autóctona con diferencias estadísticamente significativas. Estas diferencias se podrían explicar, por un lado, a partir de las prevalencias elevadas de sus países de origen, como también, a partir de factores de riesgo asociados a esas poblaciones como a su nivel socioeconómico, tal y como describen Cilla [66] o Campos [115].

El presente estudio mostró correlación entre niveles altos de IgE total y presencia de anticuerpos IgE específicos anti-*Toxocara*, demostrando que el 68,75% de los pacientes seropositivos a *Toxocara* tenían elevada la IgE total. Según Bell [116], esto se podría deber a que la respuesta IgE policlonal frente

DISCUSIÓN

a la infección por nematodos, forma parte de la respuesta inmunitaria natural frente a parásitos helmintos.

En la población de alérgicos sin sensibilización a *Toxocara* el porcentaje de elevación de la IgE total fue del 58%. En estos individuos esta cifra elevada de la IgE total se explicaría por el propio fenómeno de la atopia.

El contacto con perros y / o gatos no demostró ser un factor de riesgo asociado a la seropositividad en ninguna de las poblaciones estudiadas tal y como manifiestan otros autores como Valero [105] y Overgaauw [117]. Ellos consideran que el contacto con animales no es un factor de riesgo potencial para adquirir esta parasitosis.

Las diferencias entre la población urbana y la rural, tampoco demostraron ser un factor de riesgo en la infestación por *Toxocara*. Estos datos también coinciden con los presentados por Valero [105]. En cambio, Conde y colaboradores [118], en Salamanca, sí encontraron diferencias entre estos parámetros; pero tal y como se expone en el estudio de Buijs y colaboradores [119], estas diferencias serían mínimas si las poblaciones rural y urbana tuvieran un nivel socioeconómico e higiénico-sanitario parecido.

Está demostrada la asociación entre los eosinófilos y la proteína catiónica del eosinófilo (ECP) y la alergia y las enfermedades parasitarias como la toxocarosis [15, 70].

En el trabajo aquí presentado, la relación entre contajes altos de eosinófilos en sangre periférica y seropositividad a *T. canis* no mostró ninguna concordancia. Tan solo se observó en menos de un 5% de esos individuos. Buijs y colaboradores [119] proponen que, dependiendo del momento de la infección, la migración de los eosinófilos puede ser más o menos activa y esto podría justificar la variabilidad de los datos en los individuos seropositivos.

Tampoco se observó correlación entre valores altos de ECP y seropositividad. Tan solo el 21,4 % los pacientes seropositivos a *Toxocara* presentaron valores elevados de ECP ($p < 0,1$). Aunque Magnaval y colaboradores [15] proponen el

DISCUSIÓN

uso de la ECP como parámetro útil para distinguir entre toxocarosis activa y pasiva, independientemente de cómo sea el contaje de eosinófilos, en este estudio, en el que por otra parte pudimos definir tan solo casos de toxocarosis asintomáticas, encubiertas o con formas urticariformes, no pudimos comprobar dicha afirmación, y tan solo se pudo observar que existe una cierta correlación ($p=0,05$) entre ECP y expresión de la urticaria.

Desde que De Savigny [120] describió el método para el mantenimiento de las larvas L2 de *Toxocara* en cultivos in vitro como fuente de obtención de antígenos de excreción-secreción de esas larvas y su posterior aplicación al serodiagnóstico de la toxocarosis humana, la utilización del ELISA para el diagnóstico individual de la toxocarosis, así como para la realización de estudios seroepidemiológicos, se ha convertido en el método de elección con unos valores de especificidad de $>90\%$ y sensibilidad de $>80\%$ [34].

Pocos estudios analizan al mismo tiempo anticuerpos de las clases IgE e IgG frente a *Toxocara* [53, 121, 122, 123]. La mayoría de trabajos se limitan a estudiar sólo la respuesta IgE. Magnaval y colaboradores [123] ya en 1992 citó que la IgE específica como parámetro único, es insuficiente en el serodiagnóstico de la toxocarosis. Posteriormente, los mismos autores plantearon el uso conjunto de IgE e IgG específicas para realizar un diagnóstico más fiable [123].

Esta respuesta IgG/IgE frente a los antígenos de E-SL2 de *T. canis*, sugiere una respuesta conjunta frente a la infección en la que la IgE podría reforzar la respuesta protectora del hospedador intermediario frente a la infección por las larvas del parásito.

Por otro lado, la coexistencia de IgE e IgG específicas pueden competir por los mismos antígenos del E-SL2 pudiéndose producir un enmascaramiento en la presencia de los anticuerpos IgE por inhibición competitiva con los de la clase G [53]. Ésa, precisamente, sería una de las justificaciones que reforzarían el uso conjunto de la medida de los dos isotipos en el diagnóstico serológico de la toxocarosis humana.

DISCUSIÓN

Sin duda alguna, la utilización conjunta de diferentes técnicas inmunológicas así como la evaluación de distintos parámetros inmunológicos, ofrece mayor sensibilidad y especificidad [121, 122] al diagnóstico complementario de las parasitosis, incluida y especialmente la toxocarosis.

Con esa justificación se utilizaron diferentes métodos inmunológicos (ELISA e inmunotransferencia) y se evaluaron diversos parámetros inmunológicos (IgG, IgE y ECP). Así mismo y como valor añadido, se realizó una aproximación al diagnóstico molecular en donde se evaluó el papel diagnóstico y pronóstico que pudiesen tener algunos de los antígenos/alérgenos que están incluidos en el material larvario de estas especies.

En este trabajo se pudo observar un total de 21 individuos seropositivos utilizando la combinación de las técnicas de ELISA e inmunotransferencia. La aproximación al diagnóstico molecular realizada mediante inmunotransferencia que se reveló con anti-IgE y anti-IgG demostró que 17 de esos sueros mostraron anticuerpos IgG y/o IgE frente a uno o más componentes del antígeno ES-L2 entre pesos moleculares de 120 y 26 kDa, revelados mediante esa técnica.

Se pudo observar que el componente de 120 kDa se revela de forma mayoritaria tanto a través del isotipo de IgG como del isotipo IgE siempre con valores superiores al 50%, con independencia de la expresión o no de urticaria. Es el componente de 70 kDa y a través de la IgE, quien reacciona de forma mayoritaria (62,5%) en sujetos con urticaria, por lo que podríamos sugerir que este componente (TES-70), además de mostrarse como alérgeno relevante (alérgeno mayor), podría constituir un marcador diagnóstico de urticarias en las que podría intervenir el parásito *Toxocara*, cuando dicho diagnóstico se realiza detectando los anticuerpos específicos (anti-TES-70) de la clase IgE.

Los componentes de 32 y 26 kDa, revelados con IgG, reaccionan con el 50% o más de los individuos con y sin urticaria, mientras que lo hacen con el 25% o menos de los sujetos con o sin urticaria estudiados por medio de la IgE específica.

Al contrario que en el trabajo realizado por Valero [105], en el presente estudio el componente de 32 kDa (TES-32) no se reveló como alérgeno mayor, aunque sí como antígeno relevante al igual que el componente de 26 kDa. En ambos

DISCUSIÓN

casos más del 50% de los individuos reaccionó con dichos componentes, por medio de la IgG.

Una posible explicación sería el sesgo existente en las poblaciones estudiadas, en la que tanto la inclusión de muestra pediátrica y de población general sin sintomatología aparente de Toxocarosis (formas asintomáticas) fueron los puntos más importantes en la inclusión de pacientes tenidos en cuenta por Valero [105].

Así mismo se observó que 9 pacientes presentaron una respuesta dual mediada tanto por IgG como por IgE específica frente a los antígenos ES de *Toxocara canis*.

Dicha respuesta dual se dio en 4 de 9 pacientes del grupo de individuos sin urticaria y en 5 de 8 pacientes del grupo de sujetos con urticaria.

No parece que la respuesta dual esté relacionada con la presencia de urticaria en individuos seropositivos.

Tan solo uno de los nueve pacientes con respuesta dual no mostró anticuerpos IgG e IgE frente al componente de 120 kDa. Todos los demás sí lo hicieron, no habiendo diferencias significativas entre los grupos con y sin urticaria, en referencia a este componente de elevado peso molecular.

Aunque se desconoce el papel real de esta respuesta dual, es probable que en aquellos individuos en los que la respuesta de la IgE anti-*Toxocara* sea evidente, la posible relación con fenómenos de hipersensibilidad frente a dichos antígenos sea también obvia tal y como ocurre con la anisakiosis [99].

Tal vez sería interesante conocer cuáles de los antígenos de *Toxocara* son capaces de inducir la producción de IgE específica para poder estudiar la posibilidad de respuesta alérgica en relación con la infección por *Toxocara*.

Magnaval y colaboradores [50] afirman que los antígenos de menor peso molecular (24-35 kDa) son los más específicos para el diagnóstico de toxocarosis humana sin describir cuál es la naturaleza de estos antígenos. Es muy probable que el antígeno de 35 kDa descrito por Magnaval [50] se corresponda con la lectina tipo C TES 32 identificada por Loukas y colaboradores [52] capaz de inducir una respuesta Th2 en el hombre.

DISCUSIÓN

Algunos autores indican que la detección de IgE específica frente a los antígenos de excreción-secreción de *T. canis* junto con la determinación de la ECP son marcadores de infección activa en la toxocarosis humana tal y como se ha comentado con anterioridad [50, 53].

Según esta afirmación 9 de los individuos seropositivos frente al antígeno de *Toxocara* podrían corresponder a formas activas de toxocarosis aunque en ninguno de ellos pudimos demostrar indicios de actividad manifiesta. Hablaríamos en estos casos de toxocarosis encubierta o de toxocarosis con expresión de formas urticariformes como resultado de una respuesta inmune asociada a fenómenos de hipersensibilidad.

Cuando analizamos la prevalencia según valores de seropositividad de la IgE y la IgG frente a *T. canis* no pudimos encontrar diferencias significativas entre ninguna de las poblaciones estudiadas (grupo control y pacientes alérgicos con y sin urticaria). Si bien es cierto que cuando nos fijamos en la IgG, existe una tendencia a la significación estadística ($p=0,05$) entre el grupo control (población general) y el grupo de las urticarias totales. Esta tendencia no se observa en la IgE.

Varios autores comentan la especificidad de los componentes de 24-35 kDa [50,124] e indican que existe reactividad cruzada entre los componentes de alto peso molecular (>32 kDa) con anticuerpos de helmintos relacionados filogenéticamente (*Ascaridida*).

No se conocen estudios de reactividad cruzada del TES-32 con otros antígenos individualizados de helmintos, por lo que tal y como afirma el grupo de García [125] el TES-32 se puede considerar un antígeno específico de *T. canis*. Se ha visto que sueros de pacientes reactivos a *Toxocara* muestran reactividades cruzadas débiles a extractos de *Anisakis* sin clínica sugestiva de anisakiosis.

Anadón [48] y García [125] plantean que la reactividad cruzada entre *Anisakis* y *Toxocara* se debería a otros componentes distintos al TES-32, Ani s 1 y Ani s 7.

DISCUSIÓN

En cuanto a la realización de la inmunotransferencia, si tenemos en cuenta que para considerar positivo un resultado para toxocarosis debe presentar el triplete de bandas de 120 kDa más el de 32 kDa más el de 26 kDa sin ninguna banda más, tan solo 4 pacientes fueron positivos.

Referente a la detección de alguna banda, de todos los pacientes estudiados tan solo 21 presentaron alguna banda siendo la mayoría positivos para la de 120 kDa en lo que a la IgE específica frente a *T. canis* se refiere y para la de 32 kDa y 26 kDa en cuanto a la IgG. Las bandas de 32 y 70 contienen los antígenos específicos de *Toxocara*.

El porcentaje elevado de pacientes que aunque no cumple la presencia del triplete específico pero tienen bandas en IgE, en IgG y presentan una ECP elevada, apoyan el diagnóstico de toxocarosis activa. Con ello tenemos criterios de seropositividad superiores a si sólo tenemos en cuenta el triplete (4 pacientes). Es por este motivo, que el criterio de positividad de la inmunotransferencia deberíamos valorarlo con precaución y proponemos asociar los resultados de la ECP a la seropositividad de la IgE, la IgG y la inmunotransferencia para demostrar que por lo menos los individuos han estado en contacto con las larvas de *Toxocara* y por lo tanto, deberíamos considerarlos formas de toxocarosis encubierta.

En base a todo lo expuesto, consideramos que asociar la IgE a la IgG juega un papel importante en el diagnóstico de las toxocarosis y mientras que entre la población control y la de alérgicos sin urticaria la prevalencia de toxocarosis se ha mantenido alrededor de 7-9%, en la población de alérgicos con urticaria ha sido del 16%. Por tanto, en lo que a *Toxocara* se refiere y en concreto a la valoración de la IgG encontramos diferencias prácticamente significativas ($p=0,005$) entre los sujetos alérgicos afectados de urticaria y los que no.

Anisakis simplex.

La anisakiosis también se considera una parasitación ubicua íntimamente ligada al consumo de pescado crudo, en vinagreta o en forma de algunos encurtidos. España tiene una de las tasas mundiales más alta de consumo de

DISCUSIÓN

pescado (89 g/persona/día) [73] y gran parte del pescado de nuestros mercados tienen cifras de parasitación por *Anisakis simplex* realmente muy altas [75, 76].

En un estudio multicéntrico llevado a cabo por la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC) se observó una sensibilización a *Anisakis simplex* del 38.1% en los pacientes que habían presentado recientemente un episodio de urticaria o edema y del 13,1% en el grupo de personas asintomáticas [77]. En otros estudios realizados la sensibilización oscila entre el 22% [78] y el 75% [79] en función de la región estudiada.

Las manifestaciones clínicas de estos pacientes suelen ser debidas a anisakiosis gastroalérgica [78] que puede llegar a alcanzar la anafilaxia en el 25% de los casos.

La sensibilización a *A. simplex* se ha asociado a la presencia de urticaria tanto aguda como crónica. A pesar de que alrededor del 24% de los pacientes con urticaria aguda presentan IgE específica a *A. simplex*, tan solo en el 36% de estos casos el parásito es el agente causal [78]. Las pruebas diagnósticas rutinarias (prick test e IgE específica) frente al extracto completo de *A. simplex* pueden sobreestimar el número de pacientes alérgicos, de manera que, en muchos trabajos se han observado individuos con sensibilización a *A. simplex* tanto en personas sanas como en pacientes con urticaria cuya anamnesis no concuerda con la típica de alergia a este parásito (16-22%) [126].

Tal y como ocurre con *T. canis*, la falta de una prueba diagnóstica que sea un “gold standard” hace que, para reforzar el diagnóstico, tengamos que realizar una buena historia clínica (que relacione la clínica con la ingesta de pescado fresco en horas previas), las pruebas cutáneas y la IgE específica frente a *A. simplex* [46].

Gracias a los avances obtenidos en los últimos años en lo que a biología molecular se refiere, se han purificado y producido componentes moleculares alérgicos procedentes de la fuente completa del extracto larvario. Hasta la fecha se han identificado 19 alérgenos diferentes de *A. simplex* (www.allergome.org) de los que 12 tienen nomenclatura oficial. De ellos, Ani s 1 y Ani s 7 se consideran alérgenos mayores, siendo capaces de detectar el 85% y el 100% respectivamente de los pacientes realmente alérgicos a *A.*

DISCUSIÓN

simplex [54]. Además la presencia de IgE específica frente a Ani s 1 se ha asociado a una parasitación por *A. simplex* más antigua que la presencia de Ani s 7 que se relaciona con parasitación reciente [48, 51].

Recientemente el grupo de Daschner [55] ha propuesto un origen multifactorial en la urticaria crónica, en la cual la presencia de IgE se debe interpretar como un parasitismo previo de *A. simplex* pero el papel real de esta inmunoglobulina es incierto. Ellos han observado que la patología alérgica asociada a *Anisakis* tiene un comportamiento mixto entre enfermedad parasitaria y enfermedad alérgica. Parece ser, que la producción de IgG₄ frente a Ani s 7 se asocia con GAA y esto implica no sólo un marcador para diferenciar esta entidad de la urticaria crónica sino también un factor que podría actuar como protector frente a la urticaria crónica.

Otro de los alérgenos de importancia en el diagnóstico de *Anisakis* que se ha estudiado en este trabajo es el Ani s 3 (tropomiosina) responsable de la reactividad cruzada y que podría explicar la sensibilización a *Anisakis simplex* a través de la alergia a los ácaros del polvo [127] o a otros nematodos.

En este trabajo se ha estudiado el papel que juega la biología molecular frente a los alérgenos de *A. simplex* tanto en extracto completo como frente a Ani s 1, Ani s 3 y Ani s 7 pertenecientes a las mismas poblaciones que en el estudio de *T. canis*:

- No alérgicos sin urticaria o población general: 123 individuos.
- Alérgicos con urticaria (aguda y crónica): 51 individuos.
- Alérgicos sin urticaria: 182 individuos.
- No alérgicos con urticaria (aguda y crónica): 44 individuos.
- Urticarias totales (agudas y crónicas en alérgicos y no alérgicos): 95 individuos.
- Urticaria aguda: 40 individuos.
- Urticaria crónica: 55 individuos.
- Alérgicos con urticaria aguda: 27 individuos.
- No alérgicos con urticaria aguda: 13 individuos.
- Alérgicos con urticaria crónica: 24 individuos.
- No alérgicos con urticaria crónica: 31 individuos.

DISCUSIÓN

No se pudo encontrar ninguna correlación entre los valores de ECP y seropositividad frente a *Anisakis*, ni en el grupo control ni en el grupo de pacientes con urticaria (p superiores a 0,1).

Como se comentó anteriormente sólo se encontró una cierta correlación entre ECP y pacientes con urticaria ($p=0,005$).

En nuestro estudio del total de 64 individuos con IgE específica frente a *Anisakis*, 34 de ellos (53,12%) mostraba niveles elevados de IgE total.

Diversos autores han observado que los pacientes alérgicos a *A. simplex* presentan niveles de IgE total más elevados que los pacientes con urticaria aguda que están sensibilizados al parásito pero sin tener alergia [97].

Anisakis es un parásito helminto y los humanos, como hospedadores aberrantes, parece que han desarrollado mecanismos generales de defensa similares a los se observan en otros helmintos ascáridos como *Ascaris* o *Toxocara*. Uno de estos mecanismos sería la producción de IgE [128]. En este sentido la urticaria se ha propuesto como una respuesta clínica exagerada a un mecanismo inmunológico que se podría catalogar como beneficioso [129].

De este modo, el grupo de Daschner [54] afirma que la producción de IgE frente a *Anisakis* es una característica normal y evolutiva mantenida, donde la urticaria/angiodema o la anafilaxia pueden acompañar al episodio parasitario agudo.

El alto porcentaje de pacientes con IgE elevada que se observa en este estudio es de alguna manera coincidente con los datos observados por los autores anteriormente mencionados.

La cuantificación de IgE específica frente al extracto completo de *A. simplex*, tal y como se ha visto en un estudio realizado por Del Rey y colaboradores [130] da lugar a falsos positivos. Ellos observan que hay sueros de pacientes sin historia clínica sugestiva de alergia a *A. simplex* que muestran seropositividad frente a antígenos larvarios de dicho parásito. No obstante, se debe tener en cuenta que existen sujetos seropositivos con presencia del parásito y sin clínica ninguna de anisakiosis.

DISCUSIÓN

Los datos de prevalencia que se obtuvieron para *Anisakis simplex* (por IgE y/o IgG) fueron del 17% en población general, del 26% en la población de alérgicos sin urticaria y del 59% en la de alérgicos con urticaria.

En este estudio la determinación de IgE específica frente al extracto completo de *A. simplex* discrimina a la población general o control de todas las demás con significación estadística ($p < 0,05$).

Si lo que estudiamos es la IgG frente a *A. simplex* en extracto completo en nuestra población observamos diferencias significativas en cuanto a la prevalencia entre la población control y las urticarias en general, entre los pacientes no alérgicos con urticaria y los no alérgicos sin urticaria y entre los alérgicos sin urticaria y los individuos con urticaria crónica.

La determinación de IgE específica frente a Ani s 1 nos permitió discriminar entre la población control y las urticarias totales mientras que la IgG lo hizo con casi todos los grupos aquí definidos ($p < 0,05$).

No se pudo encontrar ninguna diferencia estadísticamente significativa entre ninguna población a la hora de determinar la IgE y la IgG frente a Ani s 7.

En cuanto al papel de la tropomiosina (Ani s 3), diversos autores han sugerido que podría ser la responsable tanto de la sensibilización asintomática como de los resultados falsos positivos debido a la reactividad cruzada de este tipo de panalérgenos [49, 131]. En nuestro estudio la tropomiosina permitió discriminar entre la población general y los pacientes con urticaria tanto aguda como crónica en general y entre la población general y los pacientes alérgicos con urticaria con diferencias estadísticamente significativas.

El grupo de Ventura [86] sugiere que los individuos con urticaria crónica idiopática y los que poseen sensibilización asintomática a *Anisakis* podrían ser sujetos con una sensibilización primaria a los ácaros del polvo, destacando el papel de la tropomiosina acarina como alérgeno de reactividad cruzada.

En relación a la alta prevalencia de sensibilización a *A. simplex* sin repercusión clínica se han buscado otras causas a parte de las tropomiosinas ya descritas

DISCUSIÓN

anteriormente. Así pues, parte de esta sensibilización se puede atribuir a la reactividad cruzada con otros parásitos helmintos de humanos como *Toxocara canis*, *Ascaris lumbricoides*, etc. [54, 132, 133]. En estos casos el origen de esta reactividad cruzada podría estar relacionada con los determinantes de carbohidratos (CCD) a los que se ha responsabilizado de la mayoría de falsos positivos obtenidos en la determinación de IgE específica [133, 134], aunque esto, todavía necesita estudiarse en mayor profundidad en el caso de los antígenos larvarios de parásitos helmintos.

Es por todo lo descrito anteriormente y tal y como se demuestra también en el trabajo de Martínez [135], que la determinación del alérgeno recombinante Ani s 1 puede considerarse como un marcador diagnóstico de relevancia clínica. No sólo es reconocido por el 100% de los pacientes alérgicos a *A. simplex*, sino que además es capaz de discriminar pacientes alérgicos a *A. simplex* de pacientes con urticaria aguda sensibilizados a este parásito y cuyos síntomas no tienen relación con el consumo de pescado.

Este autor también observa que la determinación de la IgE específica frente al extracto completo mediante ELISA es menos específica y pueden comportar un sobrediagnóstico si se compara con la de Ani s 1. Al final concluyen, que la mejor técnica para discriminar a los pacientes alérgicos al *A. simplex* de los pacientes sensibilizados es la prueba cutánea con Ani s 1, seguida de la determinación de la IgE específica frente a Ani s 1.

Finalmente, los resultados aquí presentados demuestran que la determinación de IgG e IgE específicas frente a extractos larvarios de Anisakis, de Ani s 1 y Ani s 3, nos ofrecen mayor información de uso clínico en cuanto que combinan la alta sensibilidad, con la especificidad y además se pueden utilizar los datos discriminativos que originan Ani s 1 como marcador de urticaria en estos pacientes.

La determinación de IgG en Anisakis es poco frecuente dado que la mayor parte del diagnóstico inmunológico de esta parasitosis se ha realizado en el ámbito de la alergia.

DISCUSIÓN

En este estudio se muestra útil la evaluación de ambos parámetros dado que nos aumenta la sensibilidad diagnóstica y nos ayuda a realizar el diagnóstico molecular bajo un marco más holístico.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. La prevalencia de parasitación por ascáridos no diagnosticables por estudio coproparasitológico es elevada: 24% en población general y 44% en población alérgica con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,01$).
2. La población inmigrante posee prevalencias de toxocarosis más altas que la población autóctona con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,00$).
3. Los pacientes alérgicos con urticaria poseen prevalencias de parasitación (*Anisakis/Toxocara*) superiores a las del grupo control (75% vs. 24%).
4. La ECP es un valor a tener en cuenta en las urticarias pero no posee correlación con la seropositividad a los parásitos estudiados.
5. En este estudio la determinación de IgE específica frente al extracto completo de *A. simplex* discrimina a la población general o control de todas las demás con significación estadística ($p < 0,05$).
6. La determinación de IgG frente a *A. simplex* en extracto completo en nuestra población permite observar diferencias significativas en cuanto a la prevalencia entre la población control y las urticarias en general, entre los pacientes no alérgicos con urticaria y los no alérgicos sin urticaria y entre los alérgicos sin urticaria y los individuos con urticaria crónica.
7. La determinación de IgE específica frente a Ani s 1 nos permitió discriminar entre la población control y las urticarias totales mientras que la IgG lo hizo con casi todos los grupos aquí definidos ($p < 0,05$).
8. La determinación de la IgE y/o IgG específica frente a Ani s 7 no encontró ninguna diferencia estadísticamente significativa entre ninguna de las poblaciones estudiadas.

CONCLUSIONES

9. La determinación de la tropomiosina permitió discriminar entre la población general y los pacientes con urticaria tanto aguda como crónica en general y entre la población general y los pacientes alérgicos con urticaria con diferencias estadísticamente significativas. Habría que tener en cuenta que a pesar de discriminar, por otra parte, la tropomiosina puede indicarnos urticaria a través de otras especies que no sean estos parásitos por reactividad cruzada.
10. La utilización de la IgG/IgE tanto en *Toxocara* como en *Anisakis*, aumenta la sensibilidad y en ese sentido *Toxocara* “estimula” más la IgE y *Anisakis* la IgG.
11. El diagnóstico molecular nos da más datos clínicos porque la determinación de Ani s 1 y Ani s 3 se relaciona con formas urticariformes y reactividad cruzada.
12. Los componentes larvarios de *Toxocara* de peso molecular elevado (120 kDa) estimulan la respuesta tanto en IgG como en IgE y tanto en población general como en población alérgica (en todos los grupos de población estudiados).
13. Los componentes de bajo peso molecular (26, 32, 40 kDa) estimulan mayoritariamente la IgG en todas las poblaciones. Sin embargo, la respuesta IgE es mucho más pobre y limitada. Tan solo el TES 70 (70 kDa) parece estimular más la respuesta en IgE y está relacionado con las formas clínicas asociadas a urticaria.
14. En este estudio la evaluación IgG/IgE específica frente a estos parásitos aumenta la sensibilidad diagnóstica frente a los extractos larvarios y frente a los antígenos individualizados de ambos parásitos, a la vez que permite realizar aproximaciones clínicas al diagnóstico de laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Glickman LT, Schantz PM. Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis. *Epidemiol Rev* 1981;3:230-50.
2. Lewis JW, Maziels RM. *Toxocara* and toxocariasis: Clinical, Epidemiological and Molecular Perspectives. London: Institute of Biology and British Society for Parasitology; 1993.
3. www. Taxonomicon. Taxonomy. nl.
4. Warren, G Studies on the morphology and taxonomy of the genera *Toxocara* Stiles, 1905 and *Neoascaris* Travassos, 1927. *Zoologischer Anzeiger*; 1970 Vol. 185 No. 5/6 pp. 393-442.
5. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=6264>.
6. Nagakura K, Kanno S, Tachibana H, Kaneda Y, Ohkido M, Kondo K, Inoue H. Serologic differentiation between *Toxocara canis* and *Toxocara cati*. *J Infect Dis* 1990;162(6):1418-9.
7. Sprent JF. One the migratory behavior of the larvae of various *Ascaris* species in white mice. I. Distribution in tissues. *J Infect Dis* 1952; 90(2):165-176.
8. Burke TM, Robertson EL. Prenatal and lactational transmission of *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum*: experimental infection of the bitch at midpregnancy and at parturition. *Int J Parasitol* 1985;15 (5):485-90.
9. Maziels RM, Loukas A. The surface and secreted antigens of *Toxocara canis*: Genes, Protein Structure and Function. *Parasite Nematodes- Molecular Biology, Biochemistry and Immunology*. Kennedy MW and Harbett W (Eds). CABI Publishing, Wallingford England 2001;229-246.
10. Beaver PC. Toxocarosis (visceral larva migrans) in relation to tropical eosinophilia. *Bull Soc Pathol Exot Filiales* 1962;55:555-576.
11. Beaver PC. Zoonosis with particular reference to parasites of veterinary importance. New York: *Biology of Parasites*. Soulsby, E.J.L (Ed.). Academic Press; 1966:215-227.
12. Stürchler D, Weiss N, Gassner M. Transmission of toxocariasis. *The J Infect Dis* 1990;162(2):571.

BIBLIOGRAFÍA

13. Hoffmeister B, Glaeser S, Flick H, Pornschlegel S, Suttorp N, Bergmann F. Cerebral toxocariasis after consumption of raw duck liver. *Am J Trop Med Hyg* 2007;76(3):600-602.
14. Salem G, Schantz P. Toxocaral visceral larva migrans after ingestion of raw lamb liver. *Clin Infect Dis* 1992;15(4):743-4.
15. Magnaval JF, Glickman LT, Dorchie P, Morassin B. Highlights of human toxocariasis. *Korean J Parasitol* 2001(1);39:1-11.
16. Wilder HC. Nematode endophthalmitis. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 1950;55:99-109.
17. Beaver PC, Snyder CH, Carrera GM, Dent JH, Lafferty JW. Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans; report of three cases. *Pediatrics* 1952;9(1):7-19.
18. Phan SH, Kunkel SL. Lung cytokine production in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Exp Lung Res* 1992;18(1):29-43.
19. Abe K, Shimokawa H, Kubota T, Nawa Y, Takeshita A. Myocarditis associated with visceral larva migrans due to *Toxocara canis*. *Intern Med* 2002;41(9):706-8.
20. Glickman LT, Magnaval JF, Domanski LM, Shofer FS, Lauria SS, Gottstein B, Brochier B. Visceral larva migrans in French adults: a new disease syndrome? *Am J Epidemiol* 1987;125(6):1019-1034.
21. Taylor M, Keane CT, O'Connor P, Mulvihill E, Holland C. The expanded spectrum of toxocaral disease. *Lancet* 1988;1(8587):692-5.
22. Beautyman W, Woolf AL. An ascaris larva in the brain in association with acute anterior poliomyelitis. *J Pathol Bacteriol* 1951;63(4):635-647.
23. Finsterer J, Auer H. Neurotoxocarosis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2007;49:279-287.
24. Audicana MT. Alergia al *Anisakis simplex*. Libro de las enfermedades alérgicas de la Fundación BBVA. Bilbao: Fundación BBVA; 2012:345-353.
25. DPdx. Anisakiasis-Biology. Life Cycle. Available on: <http://www.cdc.gov/parasites/anisakiasis/biology.html>.
26. Van Thiel PH. Anisakiasis. [Abstract]. *Parasitology* 1962;52:16-17.

BIBLIOGRAFÍA

27. Pravettoni V, Primavesi L, Piantanida M. *Anisakis simplex*: current knowledge. Eur Ann Allergy Clin Immunol 2012;44(4):150-6.
28. Barbarroja J, Rodríguez M, Sánchez MJ, Antolin D, Alvarez M. *Anisakis simplex*: a new etiological agent of kounis syndrome. Int J Cardiol 2013;167(6):e187-9. doi:10.1016/j.ijcard.2013.04.058. Epub 2013 Apr 29.
29. Choi SJ, Lee JC, Kim MJ, Hur GY, Shin SY, Park HS. The clinical characteristics of *Anisakis* allergy in Korea. Korean J Intern Med 2009; 24(2):160-3.
30. Audicana MT, Kennedy MW. *Anisakis simplex*: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. Clin Microbiol Rev 2008; 21(2):360-79.
31. Añíbarro B, Seoane FJ, Múgica MV. Involvement of hidden allergens in food allergic reactions. J Investig Allergol Clin Immunol 2007;17(3):168-172.
32. García F, Blanco JG, Garcés M, Juste S, Fuentes M, Herrero D. Freezing protects against allergy to *Anisakis simplex*. J Investig Allergol Clin Immunol 2001;11(1):49-52.
33. Valls A, Pascual CY, Martín M. *Anisakis* y anisakiosis. Allergol Immunopathol 2003;31(6):348-355.
34. Despommier D. Toxocariasis: Clinical aspects, epidemiology, medical ecology and molecular Aspects. Clin Microbiol Rev 2003;16(2):265-272.
35. Doedens A, Loukas A, Maizels RM. A cDNA encoding Tc-MUC-5, a mucin from *Toxocara canis* larvae identified by expression screening. Acta Trop 2001;79(3):211-217.
36. Badley JE, Grieve RB, Bowman DD, Glickman LT, Rockey JH. Analysis of *Toxocara canis* larval excretory-secretory antigens: physicochemical characterization and antibody recognition. J Parasitol 1987;73(3):593-600.
37. Page AP, Rudin W, Fluri E, Blaxter ML, Maizels RM. *Toxocara canis*: a labile antigenic surface coat overlying the epicuticle of infective larvae. Exp Parasitol 1992;75(1):72-86.
38. Maizels RM, Holland MJ. Parasite immunology: pathways for expelling intestinal helminths. Curr Biol 1998;8(20):R711-714.

BIBLIOGRAFÍA

39. Weis WI, Taylor ME, Drickamer K. The C-Type lectin superfamily in the immune system. *Immunol Rev* 1998;163:19-34.
40. Loukas A, Maizels RM. Helminth C-type lectins and host-parasite interactions. *Parasitol Today* 2000;16(8):333-339.
41. Yahiro S, Cain G, Butler JE. Identification, characterization and expression of *Toxocara canis* nematode polyprotein allergen TBA-1. *Parasite Immunol* 1998;20(8):351-357.
42. Kennedy MW. The nematode polyprotein allergens/antigens. *Parasitol Today* 2000;16(9):373-380.
43. Xia Y, Spence HJ, Moore J, Heaney N, McDermott L, Cooper A, Watson DG, Mei B et al. The ABA-1 allergen of *Ascaris lumbricoides*: sequence polymorphism, stage and tissue-specific expression, lipid binding function, and protein biophysical properties. *Parasitology* 2000;120:211-224.
44. Maizels RM, de Savigny D, Ogilvie BM. Characterization of surface and excretory-secretory antigens of *Toxocara canis* infective larvae. *Parasite Immunol* 1984;6(1):23-37.
45. Moneo I, Caballero ML, Gómez F, Ortega E, Alonso MJ. Isolation and characterization of a major allergen from the fish parasite *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106(1):177-82.
46. Gamboa PM, Asturias J, Martínez R, Antépara I, Jáuregui I, Urrutia I, Fernández J, Sanz ML. Diagnostic utility of components in Allergy to *Anisakis simplex*. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2012;22(1):13-19.
47. Anadón AM, Romarís F, Escalante M, Rodríguez E, Gárate T, Cuéllar C, Ubeira FM. The *Anisakis simplex* Ani s 7 major allergen as an indicator of true *Anisakis* infections. *Clin Exp Immunol* 2009;156(3):471-8.
48. Anadón AM, Rodríguez E, Gárate MT, Cuéllar C, Romarís F, Chivato T, Rodero M, González-Díaz H, Ubeira FM. Diagnosing human anisakiasis: recombinant Ani s 1 and Ani s 7 allergens versus the UniCAP 100 fluorescence enzyme immunoassay. *Clin Vaccine Immunol* 2010;17(4):496-502.

BIBLIOGRAFÍA

49. Guarneri F, Guarneri C, Benvenga S. Cross-reactivity of *Anisakis simplex*: possible role of Ani s 2 and Ani s 3. *Int J Dermatol* 2007; 46(2):146-50.
50. Magnaval JF, Fabre R, Maurières P, Charlet JP, de Larrad B. Application of the Western blotting procedure for the immunodiagnosis of human toxocariasis. *Parasitol Res* 1991;77(8):697-702.
51. Cuéllar C, Daschner A, Valls A, De Frutos C, Fernández-Fígares V, Anadón AM et al. Ani s 1 and Ani s 7 recombinant allergens are able to differentiate distinct *Anisakis simplex*-associated allergic clinical disorders. *Arch Dermatol Res* 2012;304(4):283-8.
52. Loukas A, Mullin NP, Tetteh KK, Moens L, Maizels RM. A novel C-type lectin secreted by a tissue-dwelling parasitic nematode. *Curr Biol* 1999;9(15):825-828.
53. Genchi C, Falagiani P, Riva G, Tinelli M, Brunello F, Boero M, Almaviva M. IgE and IgG antibodies in *Toxocara canis* infection. A clinical evaluation. *Ann Allergy* 1988;61(1):43-46.
54. Daschner A, Cuéllar C, Rodero M. The *Anisakis* allergy debate: Does an evolutionary approach help? *Trends Parasitol* 2012;28(1):9-15.
55. Daschner A, Fernández-Fígares V, Rodero M, Valls A, De Frutos C, Ubeira FM, Cuéllar C. Specific IgG₄: Possible Role in the Pathogenesis and a New Marker in the Diagnosis of *Anisakis*-associated Allergic Disease. *Scand J Immunol* 2014;79(2):120-126.
56. Demirci M, Yildirim M, Aridogan BC, Baysal V, Korkmaz M. Tissue parasites in patients with chronic urticaria. *J Dermatol*. 2003;30(11):777-81.
57. Wolfrom E, Chêne G, Boisseau H, Beylot C, Géniaux M, Taïeb A. Chronic urticaria and *Toxocara Canis* (letter). *Lancet* 1995;21; 345(8943):196.
58. Wolfrom E, Chêne G, Lejoly-Boisseau H, Beylot C, Geniaux M, Taïeb A. Chronic urticaria and *Toxocara canis* infection. A case-control study. *Ann Dermatol Venereol* 1996;123(4):240-6.

BIBLIOGRAFÍA

59. Humbert P, Niezborala M, Salembier R, Aubin F, Piarroux R, Buchet S, et al. Skin manifestations associated with toxocariasis: a case-control study. *Dermatology* 2000;201(3):230-4.
60. Ismail MA, Khalafallah O. *Toxocara canis* and chronic urticaria in Egyptian patients. *J Egypt Soc Parasitol* 2005 Dec;35(3):833-40.
61. Humbert P. Toxocariasis: a parasitosis that should be recognized by dermatologists. *Les Nouvelles Dermatologiques* 1995;14:424-5.
62. Bellanger AP, Humbert P, Gavignet B, Deschaseaux AD, Barisien C, Roussel S, et al. Comparative assessment of enzyme-linked immunosorbent assay and Western Blot for the diagnosis of toxocarasis in patients with skin disorders. *Br J Dermatol* 2010; 162(1):80-2.
63. Ishida MM, Rubinsky-Elefant G, Ferreira AW, Hoshino-Shimizu S, Vaz AJ. Helminth antigens (*Taenia solium*, *Taenia crassiceps*, *Toxocara canis*, *Schistosoma mansoni* and *Echinococcus granulosus*) and cross-reactivities in human infections and immunized animals. *Acta Trop* 2003;89(1):73-84.
64. Ghiani H. Toxocariasis y asma. *Arch Alergia Immunol Clin* 2001; 32(Suppl 2 P2):S102-S105.
65. Taylor MR, Keane CT, O'Connor P, Mulvihill E, Holland C. The expanded spectrum of toxocaral disease. *Lancet* 1988;26:692-5.
66. Cilla G, Pérez-Trallero E, Gutiérrez C, Part C, Gomáriz M. Seroprevalence of *Toxocara* infection in middle-class and disadvantaged children in northern Spain. *Eur J Epidemiol* 1996;12(5):541-543.
67. Fenoy S, Cuéllar C, Guillen JL. Seroprevalence of toxocariasis in children and adults in Madrid and Tenerife, Spain. *J Helminthol* 1996; 70(2):109-113.
68. Pinelli E, Dormans J, Van Die I. *Toxocara* and Asthma. In: Holland C, Smith H, eds. *Toxocara: the enigmatic parasite*. Oxfordshire, UK: CABI Publishers; 2006:42-57.
69. Buijs J, Borsboom G, van Gemund JJ, Hazebroek A, van Dongen PA, van Knapen F, et al. *Toxocara* seroprevalence in 5-year-old elementary schoolchildren: relation with allergic asthma. *Am J Epidemiol* 1994;140(9):839-47.

BIBLIOGRAFÍA

70. González-Quintela A, Gude F, Campos J, Garea MT, Romero PA, Rey J, Meijide LM, Fernández-Merino MC, Vidal C. *Toxocara* infection seroprevalence and its relationship with atopic features in a general adult population. *Int Arch Allergy Immunol* 2006;139(4):317-24.
71. Buijs J, Egbers MW, Nijkamp FP. *Toxocara canis*-induced airway eosinophilia and tracheal hyporeactivity in guinea pigs and mice. *Eur J Pharmacol* 1995;293(3):207-15.
72. Pinelli E, Withagen C, Fonville M, Verlaan A, Dormans J, van Loveren H et al. Persistent airway hyper-responsiveness and inflammation in *Toxocara canis*-infected BALB/c mice. *Clin Exp Allergy* 2005;35(6):826-32.
73. La alimentación en España. 1992. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1993:346.
74. Gómez A, Merchante E, Moreno JC, Fente P, Izquierdo R. Parasitación por nematodos de la familia *Anisakidae* en pescados comercializados en el Municipio de Madrid. Laboratorio Municipal de Higiene de Madrid, 1990.
75. Sanmartín ML, Quintero P, Iglesias R, Santamaría MT, Leiro J, Ubeira FM. Nematodos parásitos en peces de las costas gallegas. Madrid: Díaz de Santos; 1994.
76. Caballero ML, Asero R, Antonicelli L, Kamberi E, Colangelo C, Fazii P, De Burgos C, Rodríguez-Pérez R. *Anisakis* allergy component-resolved diagnosis: clinical and immunologic differences between patients from Italy and Spain. *Int Arch Allergy Immunol* 2013;162(1):39-44.
77. Fernández de Corres L, Del Pozo MD, Aizpuru F et al. Prevalencia de la sensibilización a *Anisakis simplex* en tres áreas españolas, en relación a las diferentes tasas de consumo de pescado. Relevancia de la alergia a *Anisakis simplex*. *Alergol Inmunol Clin* 2001;16:337-346.
78. Del Pozo MD, Audicana M, Díez JM, Muñoz D, Ansótegui IJ, Fernández E, et al. *Anisakis simplex*, a relevant etiologic factor in acute urticaria. *Allergy* 1997;52(5):576-579.
79. Montoro A, Perteguer MJ, Chivato T, Laguna R, Cuéllar C. Recidivous acute urticaria caused by *Anisakis simplex*. *Allergy* 1997;52(10):985-991.

BIBLIOGRAFÍA

80. Weiss ST: Parasites and asthma/allergy: what is the relationship? *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:205-210.
81. Hagel I, Lynch NR, DiPrisco MC, Lopez RI, Garcia NM. Allergic reactivity of children of different socioeconomic levels in tropical populations. *Int Arch Allergy Immunol* 1993;101(2):209-214.
82. Pinelli E, Brandes S, Dormans J, Gremmer E, van Loveren H. Infection with the roundworm *Toxocara canis* leads to exacerbation of experimental allergic airway inflammation. *Clin Exp Allergy* 2008; 38(4):649-58.
83. Kitagaki K, Businga TR, Racila D, Elliott DE, Weinstock JV, Kline JN. Intestinal helminths protect in a murine model of asthma. *J Immunol* 2006;177(3):1628-35.
84. Smits HH, Hammad H, Van Nimwegen M, Soullie T, Willart MA, Lievers E, et al. Protective effect of *Schistosoma mansoni* infection on allergic airway inflammation depends on the intensity and chronicity of infection. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120(4):932-40.
85. Kaji K, Yoshi H, Yoshikawa M, Yamazaki M, Ikenaka Y, Noguchi R, et al. Eosinophilic cholecystitis along with pericarditis caused by *Ascaris lumbricoides*: a case report. *World Gastroenterol* 2007;21;13(27):3760-2.
86. Ventura MT, Napolitano S, Menga R, Cecere R, Asero R. *Anisakis simplex* hypersensitivity is associated with chronic urticaria in endemic areas. *Int Arch Allergy Immunol* 2013;160(3):297-300.
87. Daschner A, Rodero M, De Frutos C, Valls A, Vega F, Blanco C, Cuéllar C. Different serum cytokine levels in chronic vs. acute *Anisakis simplex* sensitization-associated urticaria. *Parasite Immunol* 2011;33(6):357-62.
88. Clark RF. Localized urticaria due to *Enterobius vermicularis*. *Arch Dermatol* 1961;84:1026.
89. Montag A, Ulrich R. Chronic urticaria in enterobiasis vermicularis (oxyuriasis). *Hautarzt* 1992;43(10):652-3.
90. Gavignet B, Piarroux R, Aubin F, Millon L, Humbert P. Cutaneous manifestations of human toxocariasis. *J Am Acad Dermatol* 2008;59 (6):1031-42.

BIBLIOGRAFÍA

91. Macpherson CN. Human behaviour and the epidemiology of parasitic zoonoses. *Int J Parasitol*. 2005;35(11-12):1319-31.
92. Zuberier T, Aberer W, Asero R, Bindslev-Jensen C, Brzoza Z, Canonica GW et al. The EAACI/GA²LEN/EDF/WAO Guideline for the definition, classification diagnosis and management of urticaria: the 2013 revision and update. *Allergy* 2014;DOI:10.1111/all.12313.
93. Gaig P, Olona M, Muñoz Lejarazu D, Caballero MT, Domínguez FJ, Echechipia S, et al. Epidemiology of urticaria in Spain. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2004;14(3):214-220.
94. Greaves M. Chronic urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105(4):664-672.
95. Grattan CE, Francis DM, Hide M, Greaves MW. Detection of circulating histamine releasing autoantibodies with functional properties of anti-IgE in chronic urticaria. *Clin Exp Allergy* 1991;21(6):695-704.
96. Pasricha JS, Pasricha A, Prakash OM. Role of gastro-intestinal parasites in urticaria. *Ann Allergy* 1972;30(6):348-351.
97. Daschner A, De Frutos C, Valls A, Vega F. *Anisakis simplex* sensitization-associated urticaria: short-lived immediate type or prolonged acute urticaria. *Arch Dermatol Res* 2010;302(8):625-629.
98. Jeebhay MF, Robins TG, Lehrer SB, Lopata AL. Occupational seafood allergy: a review. *Occup Environ Med* 2001;58(9):553-562.
99. Daschner A, Pascual CY. *Anisakis simplex*: sensitization and clinical allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005;5(3):281-5.
100. Daschner A, Cuéllar C, Valls A. Towards a differential definition of atopy: *Anisakis simplex* and the relationship between parasites and arthropods in respiratory allergy. *Parasite Immunol* 2008;30(8):417-424.
101. López-Sáez MP, Zubeldia JM, Caloto M, Olalde S, Pelta R, Rubio M, Baeza ML. Is *Anisakis simplex* responsible for chronic urticaria? *Allergy Asthma Proc* 2003;24(5):339-345.
102. Kim YH, Huh S, Chung YB. Seroprevalence of Toxocariasis among healthy people with eosinophilia. *Korean J Parasitol* 2008;46(1):29-32.
103. Brasó JV, Jorro G. Pruebas cutáneas y otras exploraciones *in vivo* con alérgenos. *Manual de Alergia Clínica*. Barcelona: Masson 2003;64-65.

BIBLIOGRAFÍA

104. Fillaux J, Magnaval JF. Laboratory diagnosis of human toxocariasis. *Vet Parasitol.* 2013; Apr15;193(4):327-36. doi:10.1016/j.vetpar. 2012.12.028. Epub 2012 Dec 20.
105. Valero A. Estudio de la respuesta dual de anticuerpos IgE e IgG en la Toxocarosis humana y su relación con el fenómeno de la alergia. Descripción de alérgenos relevantes. Tesis doctoral. Alicante. Universidad Miguel Hernández. Departamento de Medicina y Psiquiatría. 2006.
106. Vega JM, García JJ, Pérez M, Carmona MJ, Miranda A, Fernández S, Ámela A, Anguita JL, Romero E, Reina E. Epidemiología del asma en Málaga. *Alergol Inmunol Clin* 2000;15:170-172.
107. Portús M, Riera C, Prats G. A serological survey of toxocariasis in patients and healthy donors in Barcelona (Spain). *Eur J Epidemiol* 1989;5(2):224-227.
108. Giacometti A, Cirioni O, Fortuna M, Osimani P, Antonicelli L, Del Prete MS, et al. Environmental and serological evidence for the presence of toxocariasis in the urban area of Ancona, Italy. *Eur J Epidemiol.* 2000;16(11):1023-2026.
109. Stürchler D, Bruppacher R, Speiser F. Epidemiological aspects of toxocariasis in Switzerland. *Schweiz Med Wochenschr* 1986;116(33):1088-1093.
110. Matsamura K, Endo R. Seroepidemiological study on toxocaral infection in man by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Hyg (Lond)* 1983;90(1):61-65.
111. Van Knapen F, Van Leusden J, Polderman AM. Visceral larva migrans: examinations by means of ELISA of human sera for antibodies to excretory-secretory antigens of second stage larvae of *Toxocara canis*. (Abstract). *Zentralblatt für Parasitenkunde* 1983;69:13-118.
112. Alonso JM, López MA, Bojanich MV, Marull J. Infección por *Toxocara canis* en población adulta sana de una área subtropical de Argentina. *Parasitol Latinoam* 2004;59:61-64.

BIBLIOGRAFÍA

113. Espinoza Y, Huapaya P, Sevilla C, Huiza A, Jiménez S, Náquira C. Toxocarosis humana: seroprevalencia en Lima mediante la técnica de ELISA. *An Fac Med* 2003;64(4).
114. Alderete JM, Jacob CM, Pastorino AC, Elefant GR, Castro AP, Fomin AB, Chieffi PP. Prevalence of *Toxocara* infection in schoolchildren from the Butanta region. Sao Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003;98(5):593-597.
115. Campos D, Elefant GR, de Melo e Silva EO, Gandolfi L, Jacob CM, Miuki C, et al. Frequency of seropositivity to *Toxocara Canis* in children of different socioeconomic strata. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003; 36(4):509-513.
116. Bell RG. IgE, allergies and helminth parasites. A new perspective on an old conundrum. *Immunol Cell Biol* 1996;74(4):337-345.
117. Overgaauw PA. Aspects of *Toxocara* epidemiology: human toxocarosis. *Crit Rev Microbiol* 1997;23(3):215-231.
118. Conde-García L, Muro-Álvarez A, Simón-Martín F. Epidemiological studies on toxocarosis and larva migrans in a zone of western Spain. *Ann Trop Med Parasitol* 1989;83(6):615-620.
119. Buijs J, Borsboom G, Renting M, Hilgersom WJ, Van Wieringen JC, Jansen G, et al. Relationship between allergic manifestations and *Toxocara* seropositivity: a cross-sectional study among elementary school children. *Eur Resp J* 1997;10(7):1467-1475.
120. De Savigny DH. In vitro maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple method for the production of *Toxocara* ES antigen for use in serodiagnosis test for visceral larva migrans. *J Parasitol* 1975;61(4):781-2.
121. Guisantes JA, Postigo I, García-Ricobaraza M, Martínez J. Dual (IgG and IgE) specific immune response in human toxocarosis. Analysis of relevant IgE-binding excretory-secretory proteins. Book of abstracts: XVIII Congreso Latinoamericano de Parasitología (FLAP). 2007.
122. Magnaval JF, Malard L, Morassin B, Fabre R. Immunodiagnosis of ocular toxocarosis using Western-blot for the detection of specific anti-

BIBLIOGRAFÍA

- Toxocara* IgG and CAP for the measurement of specific anti-*Toxocara* IgE. J Helminthol 2002;76(4):335-339.
123. Magnaval JF, Fabre R, Maurières P, Charlet JP, de Larrad B. Evaluation of an immunoenzymatic assay detecting specific anti-*Toxocara* immunoglobulin E for diagnosis and posttreatment follow-up of human toxocariasis. J Clin Microbiol 1992;30(9):2269-2274.
124. Smith H, Holland C, Taylor M, Magnaval JF; Schantz P, Maizels R. How common is human toxocariasis? Towards standardizing our knowledge. Trends Parasitol 2009;25(4):182-188.
125. García M. Obtención y caracterización de antígenos de *Toxocara canis* que intervienen en reacciones de hipersensibilidad mediada por IgE en el hospedador definitivo y en el hombre. Tesis doctoral. Vitoria-Gasteiz. Universidad del País Vasco. Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia. 2010.
126. Puente P, Anadón AM, Rodero M, Romarís F, Ubeira FM, Cuéllar C. *Anisakis simplex*: the high prevalence in Madrid (Spain) and its relation with fish consumption. Exp Parasitol 2008;118(2):271-274.
127. Nieuwenhuizen NE, Lopata AL. *Anisakis* -- a food-borne parasite that triggers allergic host defences. Int J Parasitol 2013;43(12-13):1047-1057.
128. Cooper P. Interactions between helminth parasites and allergy. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2009;9(1):29-37.
129. Daschner A, Cuéllar C. The hidden sense of symptoms: urticaria can be beneficial. Med Hypotheses 2010;75(6):623-626.
130. Del Rey A, Valero A, Mayorga C, Gómez B, Torres MJ, Hernández J, et al. Sensitization to *Anisakis simplex* s.l. in a healthy population. Acta Trop 2006;97(3):265-269.
131. Pascual CY, Crespo JF, San Martín S, Ornia N, Ortega N, Caballero T, et al. Cross-reactivity between IgE-binding proteins from *Anisakis*, German cockroach and chironomids. Allergy 1997;52(5): 514-520.
132. Iglesias R, Leiro J, Ubeira FM, Santamarina M, Navarrete I, Sanmartín ML. Antigenic cross-reactivity in mice between third-stage larvae of *Anisakis simplex* and other nematodes. Parasitol Res 1996;82(4):378-381.

BIBLIOGRAFÍA

133. Lorenzo S, Romarís F, Iglesias R, Audicana MT, Alonso JM, Leiro J, et al. O-glycans as a source of cross-reactivity in determinations of human serum antibodies to *Anisakis simplex* antigens. *Clin Exp Allergy* 2000;30(4):551-559.
134. Moneo I, Audicana M, Alday E, Curiel G, del Pozo M, García M. Periodate treatment of *Anisakis simplex* allergens. *Allergy* 1997;52(5): 565-569.
135. Martínez RM. Aplicación del diagnóstico molecular *in vitro* mediante componentes en alergia a *Anisakis simplex*. Tesis doctoral. Pamplona: Universidad de Navarra. Departamento de Alergología e Inmunología Clínica; 2014.

ANEXO I

ANEXO I

	Paciente	IgG Toxocara	IgG Anisakis	IgG Tropomiosina	IgG Ani s 1	IgG Ani s 7	IgE Toxocara	IgE anisakis	IgE Ani s 1	IgE Ani s 7
AU	1	0,206	11,200	3,730	0,088	0,125	0,090	32,600	0,003	2,306
	2	0,097	2,070	0,000	0,084	0,061	0,141	0,940	0,002	0,000
	3	1,004	0,000	0,000	0,072	0,052	0,335	0,000	0,009	0,003
	4	0,134	2,230	0,000	0,086	0,580	0,100	0,000	0,194	0,076
	5	1,413	48,960	5,000	0,097	0,073	0,842	6,020	0,026	0,007
	6	0,104	2,390	0,000	0,117	0,145	0,100	0,000	0,008	0,009
	7	0,225	4,850	0,000	0,070	0,048	0,073	1,650	0,026	0,115
	8	0,022	2,330	2,450	0,063	0,051	0,057	0,000	0,020	0,145
	9	0,105	3,710	2,120	0,029	0,027	0,061	0,700	0,007	0,000
	10	0,038	3,440	0,000	0,022	0,029	0,059	0,240	0,007	0,000
	11	0,076	5,860	0,000	0,077	0,104	0,066	0,000	0,020	0,005
	12	0,056	2,060	0,000	0,162	0,087	0,071	0,000	0,007	0,005
	13	0,251	4,990	0,000	0,109	0,077	0,124	0,000	0,007	0,000
	14	0,010	0,000	0,000	0,084	0,053	0,071	0,370	0,003	0,000
	15	0,201	4,760	2,060	0,107	0,064	0,405	0,130	0,230	0,000
	16	0,098	2,770	0,000	0,495	0,086	0,088	0,000	0,004	0,000
	17	0,051	8,540	5,830	0,335	0,090	0,089	0,000	0,100	0,018
	18	0,064	7,740	0,000	0,100	0,064	0,076	0,000	0,004	0,009
	19	1,097	4,140	0,000	0,021	0,017	0,390	0,740	0,019	0,021
	20	0,263	3,160	2,060	0,011	0,008	0,043	0,360	0,006	0,009
	21	0,055	8,990	3,830	0,091	0,066	0,065	0,130	0,011	0,000
	22	0,012	2,140	0,000	0,058	0,130	0,059	0,000	0,010	0,000
	23	0,230	2,960	0,000	0,140	0,081	0,086	0,000	0,003	0,005
	24	0,011	0,000	0,000	0,070	0,054	0,067	2,880	0,067	0,028
	25	0,071	6,680	0,000	0,066	0,107	0,068	25,600	0,112	2,295
	26	0,022	2,330	2,450	0,063	0,051	0,057	0,000	0,020	0,145
	27	0,105	3,710	2,120	0,029	0,027	0,061	0,700	0,007	0,000
	28	0,038	3,440	0,000	0,022	0,029	0,059	0,240	0,007	0,000
	29	0,076	5,860	0,000	0,077	0,104	0,066	0,000	0,020	0,005
	30	0,056	2,060	0,000	0,162	0,087	0,071	0,000	0,007	0,005
	31	0,251	4,990	0,000	0,109	0,077	0,124	0,000	0,007	0,000
	32	0,010	0,000	0,000	0,084	0,053	0,071	0,370	0,003	0,000
	33	0,201	4,760	2,060	0,107	0,064	0,405	0,130	0,230	0,000
	34	0,098	2,770	0,000	0,495	0,086	0,088	0,000	0,004	0,000
	35	0,051	8,540	5,830	0,335	0,090	0,089	0,000	0,100	0,018
	36	0,064	7,740	0,000	0,100	0,064	0,076	0,000	0,004	0,009
	37	1,097	4,140	0,000	0,021	0,017	0,390	0,740	0,019	0,021
	38	0,263	3,160	2,060	0,011	0,008	0,043	0,360	0,006	0,009
	39	0,055	8,990	3,830	0,091	0,066	0,065	0,130	0,011	0,000
	40	0,012	2,140	0,000	0,058	0,130	0,059	0,000	0,010	0,000
	41	0,230	2,960	0,000	0,140	0,081	0,086	0,000	0,003	0,005
	42	0,011	0,000	0,000	0,070	0,054	0,067	2,880	0,067	0,028
	43	0,071	6,680	0,000	0,066	0,107	0,068	25,600	0,112	2,295
	Promedio	0,174	4,234	0,932	0,100	0,066	0,108	2,341	0,033	0,189

TABLA 24. Grupo de pacientes con alergia y con urticaria con resultados de IgG y/o IgE positivos frente a antígenos/alérgenos de *Toxocara* y/o *Anisakis*. Número total de pacientes incluidos en este grupo n=51. Los valores positivos se muestran encuadrados en color verde. IgG: mg/ml; IgE: kU/L.

ANEXO I

	Paciente	IgG Toxocara	IgG Anisakis	IgG Tropomiosina	IgG Ani s 1	IgG Ani s 7	IgE Toxocara	IgE anisakis	IgE Ani s 1	IgE Ani s 7
nAcU	44	0,261	3,720	0,000	0,085	0,095	0,110	6,360	0,000	2,237
	45	0,161	13,780	0,000	0,075	0,062	0,161	0,520	0,021	0,017
	46	0,876	3,090	0,000	0,103	0,082	2,229	0,580	0,016	0,029
	47	0,261	2,340	0,000	0,148	0,081	0,088	0,130	0,008	0,005
	48	0,161	3,910	0,000	0,163	0,068	0,051	0,000	0,005	0,000
	49	0,876	2,860	0,000	0,122	0,072	1,499	0,600	0,014	0,000
	50	1,553	81,700	3,800	1,255	1,550	0,402	100,000	2,223	2,479
	51	0,081	5,720	0,000	0,032	0,058	0,053	11,300	1,556	0,801
	52	0,177	4,500	0,000	0,061	0,052	0,076	1,140	0,035	0,006
	53	0,010	0,000	0,000	0,066	0,205	0,065	0,000	0,053	0,008
	54	0,593	6,880	2,900	0,086	0,075	0,367	0,940	0,000	0,000
	55	0,172	4,070	0,000	0,081	0,066	0,087	0,000	0,020	0,000
	56	0,215	8,740	0,000	0,073	0,055	0,090	2,430	0,011	0,000
	57	0,062	3,450	0,000	0,171	0,122	0,046	0,110	0,008	0,009
	58	0,109	3,210	2,110	0,081	0,053	0,087	0,340	0,000	0,000
	59	0,041	3,260	0,000	0,020	0,029	0,051	2,500	1,015	0,153
	60	0,347	12,000	0,000	0,008	0,009	0,052	0,000	0,003	0,009
	61	0,737	6,780	3,650	0,017	0,020	1,212	0,310	0,018	0,016
	62	0,008	4,420	0,000	0,026	0,031	0,056	0,000	0,000	0,000
	63	0,094	4,500	0,000	0,118	0,250	0,052	0,000	0,077	0,066
64	1,329	7,300	0,000	0,133	0,078	0,523	1,120	0,012	0,014	
65	0,031	6,290	2,570	0,158	0,095	0,054	15,200	0,049	0,022	
66	0,604	8,550	3,150	0,128	0,081	0,093	1,370	0,004	0,010	
67	0,020	13,700	0,000	0,181	0,071	0,071	0,000	0,000	0,000	
68	0,880	8,100	5,070	0,122	0,075	0,233	0,800	0,000	0,002	
69	0,016	2,510	0,000	0,074	0,057	0,162	0,350	0,000	0,000	
Promedic	0,372	8,668	0,894	0,138	0,134	0,307	5,619	0,198	0,226	

TABLA 25. Grupo de pacientes sin alergia con urticaria con resultados de IgG y/o IgE positivos frente a antígenos/alérgenos de *Toxocara* y/o *Anisakis*. Número total de pacientes incluidos en este grupo n=44. Los valores positivos se muestran encuadrados en color verde. IgG: mg/ml; IgE: kU/L.

ANEXO I

	Paciente	IgG Toxocara	IgG Anisakis	IgG Tropicosisin	IgG Ani s 1	IgG Ani s 7	IgE Toxocara	IgE anisakis	IgE Ani s 1	IgE Ani s 7	
AsU	70	0,186	4,260	0,000	0,165	0,072	0,088	0,000	0,001	0,002	
	71	0,373	9,880	2,290	0,119	0,063	0,089	0,000	0,000	0,000	
	72	0,196	6,650	4,090	0,086	0,074	0,086	0,930	0,008	0,110	
	73	0,153	3,520	0,000	0,265	0,074	0,070	0,000	0,011	0,117	
	74	0,131	4,060	0,000	0,077	0,062	0,082	0,000	0,312	0,029	
	75	0,149	2,980	0,000	0,086	0,067	0,040	0,000	0,174	0,046	
	76	0,267	4,570	0,000	0,094	0,084	0,051	0,500	0,000	0,000	
	77	0,084	6,870	7,180	0,100	0,073	0,117	0,000	0,000	0,000	
	78	0,128	4,580	2,760	0,093	0,065	0,095	0,000	0,002	0,002	
	79	1,246	3,620	0,000	0,068	0,040	0,762	0,000	0,022	0,002	
	80	1,012	2,730	0,000	0,076	0,059	0,713	0,540	0,005	0,000	
	81	0,120	2,700	0,000	0,057	0,172	0,086	0,000	0,006	0,000	
	82	0,466	5,340	2,030	0,078	0,062	0,159	0,000	0,000	0,000	
	83	0,100	2,050	0,000	0,070	0,055	0,087	0,000	0,000	0,000	
	84	2,221	4,450	0,000	0,076	0,056	0,462	1,070	0,251	0,000	
	85	0,135	0,000	0,000	0,065	0,062	0,071	0,000	0,138	0,006	
	86	0,068	3,860	0,000	0,128	0,099	0,095	0,470	0,161	0,247	
	87	0,195	5,540	2,040	0,101	0,097	0,163	0,220	0,003	0,000	
	88	0,081	0,000	0,000	0,142	0,069	0,085	0,000	0,026	0,004	
	90	0,786	4,600	0,000	0,122	0,139	1,520	9,860	0,078	0,508	
	91	0,116	3,370	2,190	0,554	0,066	0,081	0,000	0,005	0,001	
	92	0,236	3,790	0,000	0,165	0,096	0,080	0,200	0,018	0,007	
	93	0,656	5,730	0,000	0,122	0,073	0,391	0,000	0,010	0,004	
	94	1,803	3,680	0,000	0,109	0,101	0,044	0,000	0,007	0,002	
	95	0,084	3,660	0,000	0,087	0,068	0,091	0,150	0,013	0,003	
	96	0,326	3,770	0,000	0,187	0,121	0,392	0,000	0,022	0,018	
	97	0,071	3,330	0,000	0,115	0,380	0,083	0,000	0,000	0,000	
	98	0,062	3,260	0,000	0,138	0,071	0,085	0,000	0,000	0,004	
	99	0,069	5,460	2,000	0,211	0,081	0,078	6,470	0,007	0,285	
	100	0,166	3,110	2,640	0,201	0,082	0,074	0,000	0,001	0,005	
	101	0,139	6,160	3,540	0,156	0,275	0,044	0,590	0,032	0,022	
	102	0,192	2,220	0,000	0,141	0,082	0,072	0,000	0,019	0,000	
	103	0,258	5,210	0,000	0,116	0,120	0,170	8,680	0,806	0,006	
	104	1,595	12,000	3,690	0,043	0,017	0,072	0,000	0,000	0,000	
	105	0,103	4,500	0,000	0,052	0,024	0,041	2,990	1,127	0,635	
	106	0,010	2,380	0,000	0,081	0,054	0,290	0,110	1,124	0,632	
	107	0,017	0,000	0,000	0,134	0,076	0,053	0,000	0,023	0,010	
	108	0,023	5,000	0,000	0,145	0,059	0,051	0,170	0,005	0,007	
	109	0,071	0,000	3,010	0,153	0,090	0,047	0,000	0,003	0,007	
	110	0,055	3,350	0,000	0,154	0,077	0,072	0,000	0,007	0,001	
	111	0,794	3,250	0,000	0,073	0,059	0,900	0,440	0,059	0,002	
	112	0,737	4,620	2,530	0,144	0,080	0,104	0,000	0,001	0,003	
	113	0,061	2,280	0,000	0,090	0,146	0,067	0,000	0,006	0,001	
	114	0,187	2,190	0,000	0,108	0,061	0,315	0,300	0,006	0,003	
	115	0,023	8,240	6,100	0,154	0,184	0,067	0,000	0,010	0,004	
	116	0,428	2,840	0,000	0,147	0,062	0,264	0,000	0,005	0,005	
	117	1,413	2,26	0,000	0,000	nd	0,21	10,1	0,1	nd	
	118	0,338	3,28	0,000	0,000	nd	0,1	4,6	0,1	nd	
	119	0,294	0,000	0,000	0,000	nd	0,1	70	0,1	nd	
	120	0,265	0,000	0,000	0,000	nd	0,1	9,8	0,1	nd	
	121	0,305	0,000	0,000	0,000	nd	0,1	2,51	0,1	nd	
	122	0,751	0,000	0,000	0,000	nd	0,1	35	0,1	nd	
	123	0,405	7,18	0,000	0,000	nd	0,1	55	0,1	nd	
	124	1,600	0,000	0,000	0,000	nd	0,15	11,2	0,1	nd	
	125	0,218	0,000	0,000	0,000	nd	0,1	6,61	0,1	nd	
	126	0,122	0,000	0,000	0,000	nd	0,1	45	0,1	nd	
	127	0,883	0,000	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd	
	128	0,887	0,000	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd	
	129	1,350	2,8	0,000	0,000	nd	0,23	0,1	0,1	nd	
	130	0,263	5,09	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd	
	131	0,397	5,51	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd	
	132	0,361	15,9	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd	
	133	0,185	29,1	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd	
	134	0,375	12,8	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd	
	135	0,499	16,9	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd	
	136	0,344	6,2	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd	
	137	0,382	6	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd	
	138	0,209	4,5	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd	
	139	0,369	5,8	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd	
	140	0,114	5,63	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd	
	141	0,291	6,11	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd	
		Promedio	0,408	4,517	0,649	0,082	0,090	0,165	4,014	0,099	0,060

TABLA 26. Grupo de pacientes con alergia y sin urticaria con resultados de IgG y/o IgE positivos frente a antígenos/alérgenos de *Toxocara* y/o *Anisakis*. Número total de pacientes incluidos en este grupo n=182. Los valores positivos se muestran encuadrados en color verde. IgG: mg/ml; IgE: kU/L

ANEXO I

Paciente	IgG Toxocara	IgG Anisakis	IgG Tropomiosina	IgG Ani s 1	IgG Ani s 7	IgE Toxocara	IgE anisakis	IgE Ani s 1	IgE Ani s 7
142	2,002	5,850	0,000	0,109	0,493	0,984	0,000	0,008	0,000
143	0,485	5,660	3,430	0,076	0,067	0,243	0,000	0,173	0,000
144	0,144	2,370	0,000	0,076	0,059	0,077	0,000	0,082	0,061
145	0,163	2,990	0,000	0,183	0,110	0,078	0,000	0,045	0,020
146	0,544	2,830	0,000	0,176	0,093	0,690	0,320	0,013	0,000
147	0,049	4,880	0,000	0,101	0,076	0,083	0,000	0,015	0,013
148	0,097	4,570	0,000	0,106	0,078	0,050	0,000	0,012	0,006
149	0,109	8,020	2,620	0,180	0,235	0,086	2,100	0,004	0,004
150	0,043	2,580	0,000	0,106	0,326	0,047	0,000	0,048	0,006
151	0,237	14,300	0,000	0,108	0,089	0,478	1,910	0,033	0,012
152	0,579	3,390	0,000	0,145	0,105	0,193	0,000	0,021	0,011
153	0,049	2,970	0,000	0,120	0,081	0,160	0,150	0,004	0,000
154	0,748	2,280	0,000	0,062	0,051	0,160	0,860	0,007	0,001
155	0,345	3,17	0,000	0,000	nd	0,18	0,1	0,1	nd
156	0,185	8,57	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd
157	0,104	14,9	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd
158	0,389	6,56	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd
159	0,304	11,6	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd
160	0,361	4,81	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd
161	0,082	4,54	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd
162	0,181	5,26	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd
163	1,031	0,02	0,000	0,000	nd	0,17	0,1	0,1	nd
164	0,933	3,6	0,000	0,000	nd	0,2	0,1	0,1	nd
165	0,090	4,41	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd
166	0,107	4,64	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd
167	0,164	8,57	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd
168	1,118	3,21	0,000	0,000	nd	0,1	0,1	0,1	nd
Promedio	0,394	5,428	0,224	0,057	0,143	0,184	0,250	0,069	0,010

TABLA 27. Grupo de pacientes sin alergia y sin urticaria con resultados de IgG y/o IgE positivos frente a antígenos/alérgenos de *Toxocara* y/o *Anisakis*. Número total de pacientes incluidos en este grupo n=123. Los valores positivos se muestran encuadrados en color verde. IgG: mg/ml; IgE: kU/L.

ANEXO I

Paciente	IgG Toxocara	IgG Anisakis	IgG TROPOMIOSINA	IgG Ani s 1	IgG Ani s 7	IgE Toxocara	IgE anisakis	IgE Ani s 1	IgE Ani s 7
169	0,206	11,200	3,730	0,088	0,125	0,090	32,600	0,003	2,306
170	0,097	2,070	0,000	0,084	0,061	0,141	0,940	0,002	0,000
171	1,004	0,000	0,000	0,072	0,052	0,335	0,000	0,009	0,003
172	0,134	2,230	0,000	0,086	0,560	0,100	0,000	0,194	0,076
173	1,413	48,960	5,000	0,097	0,073	0,842	6,020	0,026	0,007
174	0,104	2,390	0,000	0,117	0,145	0,100	0,000	0,008	0,009
175	0,225	4,850	0,000	0,070	0,048	0,073	1,650	0,026	0,115
176	0,022	2,330	2,450	0,063	0,051	0,057	0,000	0,020	0,145
177	0,105	3,710	2,120	0,029	0,027	0,061	0,700	0,007	0,000
178	0,038	3,440	0,000	0,022	0,029	0,059	0,240	0,007	0,000
179	0,076	5,860	0,000	0,077	0,104	0,066	0,000	0,020	0,005
180	0,056	2,060	0,000	0,162	0,087	0,071	0,000	0,007	0,005
181	0,251	4,990	0,000	0,109	0,077	0,124	0,000	0,007	0,000
182	0,010	0,000	0,000	0,084	0,053	0,071	0,370	0,003	0,000
183	0,226	3,720	0,000	0,085	0,095	0,110	6,360	0,000	2,237
184	0,748	13,780	0,000	0,075	0,062	0,161	0,520	0,021	0,017
185	0,078	3,090	0,000	0,103	0,082	2,229	0,580	0,016	0,029
186	0,261	2,340	0,000	0,148	0,081	0,088	0,130	0,008	0,005
187	0,161	3,910	0,000	0,163	0,068	0,051	0,000	0,005	0,000
188	0,876	2,860	0,000	0,122	0,072	1,499	0,600	0,014	0,000
189	1,553	81,700	3,800	1,255	1,550	0,402	100,000	2,223	2,479
190	0,081	5,720	0,000	0,032	0,058	0,053	11,300	1,556	0,801
191	0,177	4,500	0,000	0,061	0,052	0,076	1,140	0,035	0,006
192	0,010	0,000	0,000	0,066	0,205	0,065	0,000	0,053	0,008
193	0,201	4,760	2,060	0,107	0,064	0,405	0,130	0,230	0,000
194	0,098	2,770	0,000	0,495	0,086	0,088	0,000	0,004	0,000
195	0,051	8,540	5,830	0,335	0,090	0,089	0,000	0,100	0,018
196	0,064	7,740	0,000	0,100	0,064	0,076	0,000	0,004	0,009
187	1,097	4,140	0,000	0,021	0,017	0,390	0,740	0,019	0,021
198	0,263	3,160	2,060	0,011	0,008	0,043	0,360	0,006	0,009
199	0,055	8,990	3,830	0,091	0,066	0,065	0,130	0,011	0,000
200	0,012	2,140	0,000	0,058	0,130	0,059	0,000	0,010	0,000
201	0,230	2,960	0,000	0,140	0,081	0,086	0,000	0,003	0,005
202	0,011	0,000	0,000	0,070	0,054	0,067	2,880	0,067	0,028
203	0,071	6,680	0,000	0,066	0,107	0,068	25,600	0,112	2,295
204	0,593	6,880	2,900	0,086	0,075	0,367	0,940	0,000	0,000
205	0,172	4,070	0,000	0,081	0,066	0,087	0,000	0,020	0,000
206	0,215	8,740	0,000	0,073	0,055	0,090	2,430	0,011	0,000
207	0,062	3,450	0,000	0,171	0,122	0,046	0,110	0,008	0,009
208	0,109	3,210	2,110	0,081	0,053	0,087	0,340	0,000	0,000
209	0,041	3,260	0,000	0,020	0,029	0,051	2,500	1,015	0,153
210	0,347	12,000	0,000	0,008	0,009	0,052	0,000	0,003	0,009
211	0,737	6,780	3,650	0,017	0,020	1,212	0,310	0,018	0,016
212	0,008	4,420	0,000	0,026	0,031	0,056	0,000	0,000	0,000
213	0,094	4,500	0,000	0,118	0,250	0,052	0,000	0,077	0,066
214	1,329	7,300	0,000	0,133	0,078	0,523	1,120	0,012	0,014
215	0,031	6,290	2,570	0,158	0,095	0,054	15,200	0,049	0,022
216	0,604	8,550	3,150	0,128	0,081	0,093	1,370	0,004	0,010
217	0,020	13,700	0,000	0,181	0,071	0,071	0,000	0,000	0,000
218	0,880	8,100	5,070	0,122	0,075	0,233	0,800	0,000	0,002
219	0,016	2,510	0,000	0,074	0,057	0,162	0,350	0,000	0,000
Promedio	0,300	7,281	0,987	0,122	0,113	0,227	4,284	0,119	0,214

TABLA 28. Grupo de pacientes con urticaria aguda o crónica con resultados de IgG y/o IgE positivos frente a antígenos/alérgenos de *Toxocara* y/o *Anisakis*. Número total de pacientes incluidos en este grupo n=95. Los valores positivos se muestran encuadrados en color verde. IgG: mg/ml; IgE: kU/L.

ANEXO I

	Paciente	IgG Toxocara	IgG Anisakis	IgG Tropomiosina	IgG Ani s 1	IgG Ani s 7	IgE Toxocara	IgE anisakis	IgE Ani s 1	IgE Ani s 7
Uag	220	0,206	11,200	3,730	0,088	0,125	0,090	32,600	0,003	2,306
	221	0,097	2,070	0,000	0,084	0,061	0,141	0,940	0,002	0,000
	222	1,004	0,000	0,000	0,072	0,052	0,335	0,000	0,009	0,003
	223	0,134	2,230	0,000	0,086	0,580	0,100	0,000	0,194	0,076
	224	1,413	48,960	5,000	0,097	0,073	0,842	6,020	0,026	0,007
	225	0,104	2,390	0,000	0,117	0,145	0,100	0,000	0,008	0,009
	226	0,225	4,850	0,000	0,070	0,048	0,073	1,650	0,026	0,115
	227	0,022	2,330	2,450	0,063	0,051	0,057	0,000	0,020	0,145
	228	0,105	3,710	2,120	0,029	0,027	0,061	0,700	0,007	0,000
	229	0,038	3,440	0,000	0,022	0,029	0,059	0,240	0,007	0,000
	230	0,076	5,860	0,000	0,077	0,104	0,066	0,000	0,020	0,005
	231	0,056	2,060	0,000	0,162	0,087	0,071	0,000	0,007	0,005
	232	0,251	4,990	0,000	0,109	0,077	0,124	0,000	0,007	0,000
	233	0,010	0,000	0,000	0,084	0,053	0,071	0,370	0,003	0,000
	234	0,226	3,720	0,000	0,085	0,095	0,110	6,360	0,000	2,237
	235	0,748	13,780	0,000	0,075	0,062	0,161	0,520	0,021	0,017
	236	0,078	3,090	0,000	0,103	0,082	2,229	0,580	0,016	0,029
	237	0,261	2,340	0,000	0,148	0,081	0,088	0,130	0,008	0,005
	238	0,161	3,910	0,000	0,163	0,068	0,051	0,000	0,005	0,000
	239	0,876	2,860	0,000	0,122	0,072	1,499	0,600	0,014	0,000
240	1,553	81,700	3,800	1,255	1,550	0,402	100,000	2,223	2,479	
241	0,081	5,720	0,000	0,032	0,058	0,053	11,300	1,556	0,801	
242	0,177	4,500	0,000	0,061	0,052	0,076	1,140	0,035	0,006	
243	0,010	0,000	0,000	0,066	0,205	0,065	0,000	0,053	0,008	
	Promedio	0,330	8,988	0,713	0,136	0,160	0,289	6,798	0,178	0,344

TABLA 29. Grupo de pacientes con urticaria aguda con resultados de IgG y/o IgE positivos frente a antígenos/alérgenos de *Toxocara* y/o *Anisakis*. Número total de pacientes incluidos en este grupo n=40. Los valores positivos se muestran encuadrados en color verde. IgG: mg/ml; IgE: kU/L.

ANEXO I

	Paciente	IgG Toxocara	IgG Anisakis	IgG Tropomiosina	IgG Ani s 1	IgG Ani s 7	IgE Toxocara	IgE anisakis	IgE Ani s 1	IgE Ani s 7
Ucr	244	0,201	4,760	2,060	0,107	0,064	0,405	0,130	0,230	0,000
	245	0,098	2,770	0,000	0,495	0,086	0,088	0,000	0,004	0,000
	246	0,051	8,540	5,830	0,335	0,090	0,089	0,000	0,100	0,018
	247	0,064	7,740	0,000	0,100	0,064	0,076	0,000	0,004	0,009
	248	1,097	4,140	0,000	0,021	0,017	0,390	0,740	0,019	0,021
	249	0,263	3,160	2,060	0,011	0,008	0,043	0,360	0,006	0,009
	250	0,055	8,990	3,830	0,091	0,066	0,065	0,130	0,011	0,000
	251	0,012	2,140	0,000	0,058	0,130	0,059	0,000	0,010	0,000
	252	0,230	2,960	0,000	0,140	0,081	0,086	0,000	0,003	0,005
	253	0,011	0,000	0,000	0,070	0,054	0,067	2,880	0,067	0,028
	254	0,071	6,680	0,000	0,066	0,107	0,068	25,600	0,112	2,295
	255	0,593	6,880	2,900	0,086	0,075	0,367	0,940	0,000	0,000
	256	0,172	4,070	0,000	0,081	0,066	0,087	0,000	0,020	0,000
	257	0,215	8,740	0,000	0,073	0,055	0,090	2,430	0,011	0,000
	258	0,062	3,450	0,000	0,171	0,122	0,046	0,110	0,008	0,009
	259	0,109	3,210	2,110	0,081	0,053	0,087	0,340	0,000	0,000
	260	0,041	3,260	0,000	0,020	0,029	0,051	2,500	1,015	0,153
	261	0,347	12,000	0,000	0,008	0,009	0,052	0,000	0,003	0,009
	262	0,737	6,780	3,650	0,017	0,020	1,212	0,310	0,018	0,016
	263	0,008	4,420	0,000	0,026	0,031	0,056	0,000	0,000	0,000
264	0,094	4,500	0,000	0,118	0,250	0,052	0,000	0,077	0,066	
265	1,329	7,300	0,000	0,133	0,078	0,523	1,120	0,012	0,014	
266	0,031	6,290	2,570	0,158	0,095	0,054	15,200	0,049	0,022	
267	0,604	8,550	3,150	0,128	0,081	0,093	1,370	0,004	0,010	
268	0,020	13,700	0,000	0,181	0,071	0,071	0,000	0,000	0,000	
269	0,880	8,100	5,070	0,122	0,075	0,233	0,800	0,000	0,002	
270	0,016	2,510	0,000	0,074	0,057	0,162	0,350	0,000	0,000	
	Promedio	0,274	5,764	1,231	0,110	0,072	0,173	2,049	0,066	0,099

TABLA 30. Grupo de pacientes con urticaria crónica con resultados de IgG y/o IgE positivos frente a antígenos/alérgenos de *Toxocara* y/o *Anisakis*. Número total de pacientes incluidos en este grupo n=55. Los valores positivos se muestran encuadrados en color verde. IgG: mg/ml; IgE: kU/L.

ANEXO I

Paciente	IgG Toxocara	IgG Anisakis	IgG Tropomiosin	IgG Ani s 1	IgG Ani s 7	IgE Toxocara	IgE anisakis	IgE Ani s 1	IgE Ani s 7	
AcUag	271	0,206	11,200	3,730	0,088	0,125	0,090	32,600	0,003	2,306
	272	0,097	2,070	0,000	0,084	0,061	0,141	0,940	0,002	0,000
	273	1,004	0,000	0,000	0,072	0,052	0,335	0,000	0,009	0,003
	274	0,134	2,230	0,000	0,086	0,580	0,100	0,000	0,194	0,076
	275	1,413	48,960	5,000	0,097	0,073	0,842	6,020	0,026	0,007
	276	0,104	2,390	0,000	0,117	0,145	0,100	0,000	0,008	0,009
	277	0,225	4,850	0,000	0,070	0,048	0,073	1,650	0,026	0,115
	278	0,022	2,330	2,450	0,063	0,051	0,057	0,000	0,020	0,145
	279	0,105	3,710	2,120	0,029	0,027	0,061	0,700	0,007	0,000
	280	0,038	3,440	0,000	0,022	0,029	0,059	0,240	0,007	0,000
	281	0,076	5,860	0,000	0,077	0,104	0,066	0,000	0,020	0,005
	282	0,056	2,060	0,000	0,162	0,087	0,071	0,000	0,007	0,005
	283	0,251	4,990	0,000	0,109	0,077	0,124	0,000	0,007	0,000
	284	0,010	0,000	0,000	0,084	0,053	0,071	0,370	0,003	0,000
Promedio	0,267	6,721	0,950	0,083	0,108	0,156	3,037	0,024	0,191	

TABLA 31. Grupo de pacientes con alergia y urticaria aguda con resultados de IgG y/o IgE positivos frente a antígenos/alérgenos de *Toxocara* y/o *Anisakis*. Número total de pacientes incluidos en este grupo n=27. Los valores positivos se muestran encuadrados en color verde. IgG: mg/ml; IgE: kU/L.

ANEXO I

	Paciente	IgG Toxocara	IgG Anisakis	IgG Tropomiosin	IgG Ani s 1	IgG Ani s 7	IgE Toxocara	IgE anisakis	IgE Ani s 1	IgE Ani s 7
AcUcr	285	0,201	4,760	2,060	0,107	0,064	0,405	0,130	0,230	0,000
	286	0,098	2,770	0,000	0,495	0,086	0,088	0,000	0,004	0,000
	287	0,051	8,540	5,830	0,335	0,090	0,089	0,000	0,100	0,018
	288	0,064	7,740	0,000	0,100	0,064	0,076	0,000	0,004	0,009
	289	1,097	4,140	0,000	0,021	0,017	0,390	0,740	0,019	0,021
	290	0,263	3,160	2,060	0,011	0,008	0,043	0,360	0,006	0,009
	291	0,055	8,990	3,830	0,091	0,066	0,065	0,130	0,011	0,000
	292	0,012	2,140	0,000	0,058	0,130	0,059	0,000	0,010	0,000
	293	0,230	2,960	0,000	0,140	0,081	0,086	0,000	0,003	0,005
	294	0,011	0,000	0,000	0,070	0,054	0,067	2,880	0,067	0,028
295	0,071	6,680	0,000	0,066	0,107	0,068	25,600	0,112	2,295	
	Promedio	0,196	4,716	1,253	0,136	0,070	0,131	2,713	0,051	0,217

TABLA 32. Grupo de pacientes con alergia y urticaria crónica con resultados de IgG y/o IgE positivos frente a antígenos/alérgenos de *Toxocara* y/o *Anisakis*. Número total de pacientes incluidos en este grupo n=24. Los valores positivos se muestran encuadrados en color verde. IgG: mg/ml; IgE: kU/L.

ANEXO I

	Paciente	IgG Toxocara	IgG Anisakis	IgG Tropomiosina	IgG Ani s 1	IgG Ani s 7	IgE Toxocara	IgE anisakis	IgE Ani s 1	IgE Ani s 7
HAcuag	296	0,226	3,720	0,000	0,085	0,095	0,110	6,360	0,000	2,237
	297	0,748	13,780	0,000	0,075	0,062	0,161	0,520	0,021	0,017
	298	0,078	3,090	0,000	0,103	0,082	2,229	0,560	0,016	0,029
	299	0,261	2,340	0,000	0,148	0,081	0,088	0,130	0,008	0,005
	300	0,161	3,910	0,000	0,163	0,068	0,051	0,000	0,005	0,000
	301	0,876	2,860	0,000	0,122	0,072	1,499	0,600	0,014	0,000
	302	1,553	81,700	3,800	1,255	1,550	0,402	100,000	2,223	2,479
	303	0,081	5,720	0,000	0,032	0,058	0,053	11,300	1,556	0,801
	304	0,177	4,500	0,000	0,061	0,052	0,076	1,140	0,035	0,006
	305	0,010	0,000	0,000	0,066	0,205	0,065	0,000	0,053	0,008
	Promedio	0,417	12,162	0,380	0,211	0,233	0,473	12,063	0,393	0,558

TABLA 33. Grupo de pacientes sin alergia y con urticaria aguda con resultados de IgG y/o IgE positivos frente a antígenos/alérgenos de Toxocara y/o Anisakis. Número total de pacientes incluidos en este grupo n=13. Los valores positivos se muestran encuadrados en color verde. IgG: mg/ml; IgE: kU/L.

ANEXO I

	Paciente	IgG Toxocara	IgG Anisakis	IgG Tropomiosina	IgG Ani s 1	IgG Ani s 7	IgE Toxocara	IgE anisakis	IgE Ani s 1	IgE Ani s 7
NAcUcr	306	0,593	6,880	2,900	0,086	0,075	0,367	0,940	0,000	0,000
	307	0,172	4,070	0,000	0,081	0,066	0,087	0,000	0,020	0,000
	308	0,215	8,740	0,000	0,073	0,055	0,090	2,430	0,011	0,000
	309	0,062	3,450	0,000	0,171	0,122	0,046	0,110	0,008	0,009
	310	0,109	3,210	2,110	0,081	0,053	0,087	0,340	0,000	0,000
	311	0,041	3,260	0,000	0,020	0,029	0,051	2,500	1,015	0,153
	312	0,347	12,000	0,000	0,008	0,009	0,052	0,000	0,003	0,009
	313	0,737	6,780	3,650	0,017	0,020	1,212	0,310	0,018	0,016
	314	0,008	4,420	0,000	0,026	0,031	0,056	0,000	0,000	0,000
	315	0,094	4,500	0,000	0,118	0,250	0,052	0,000	0,077	0,066
	316	1,329	7,300	0,000	0,133	0,078	0,523	1,120	0,012	0,014
	317	0,031	6,290	2,570	0,158	0,095	0,054	15,200	0,049	0,022
	318	0,604	8,550	3,150	0,128	0,081	0,093	1,370	0,004	0,010
	319	0,020	13,700	0,000	0,181	0,071	0,071	0,000	0,000	0,000
	320	0,880	8,100	5,070	0,122	0,075	0,233	0,800	0,000	0,002
321	0,016	2,510	0,000	0,074	0,057	0,162	0,350	0,000	0,000	
Promedio	0,329	6,485	1,216	0,092	0,073	0,202	1,592	0,076	0,019	

TABLA 34. Grupo de pacientes sin alergia y con urticaria crónica con resultados de IgG y/o IgE positivos frente a antígenos/alérgenos de Toxocara y/o Anisakis. Número total de pacientes incluidos en este grupo n=31. Los valores positivos se muestran encuadrados en color verde. IgG: mg/ml; IgE: kU/L.

ANEXO II

INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

La Dra. Esther Jovell Fernández, Vicepresidenta del Comité de Ética de Investigación Clínica del Consorci Sanitari de Terrassa

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado con fecha 15 de diciembre de 2008 el estudio titulado "**Determinación de prevalencia de toxocara canis**" que será realizado por la **Dra. Marta Viñas Domingo** como investigadora principal.

Se acuerda emitir **INFORME FAVORABLE** condicionado a las siguientes recomendaciones:

- Se deberían definir el protocolo los términos "autóctono" e "inmigrante".

Y que este Comité acepta que dicho estudio sea realizado en el Consorci Sanitari de Terrassa por la **Dra. Marta Viñas Domingo** como investigadora principal.

Lo que firmo en Terrassa a 19 de diciembre de 2008

Firmado:



Dra. Esther Jovell Fernández