

Alergeny *Anisakis simplex*

Allergens of *Anisakis simplex*

S U M M A R Y

Anisakis simplex is a parasitic nematode whose live L3 larvae eaten by humans in dishes containing fish or cephalopods (eg sushi, marinated herrings) can cause a disease called anisakiasis. In addition, both live and dead larvae can cause dangerous allergic reactions in sensitized human. Therefore, the allergenicity of *A. simplex* L3 larvae is one of the most important pathogenic properties of the parasite to which consumers and employees of fish processing plants and gastronomy are exposed. This paper presents current information about allergens of *A. simplex*.

Anisakis simplex jest pasożytniczym nicieniem, którego żywe larwy L3 zjedzone przez człowieka w potrawach zawierających ryby lub głowonogi (np. sushi, marynowane śledzie) mogą powodować u człowieka rozwój choroby zwanej anisakiozą. Ponadto, zarówno żywe jak i martwe larwy mogą być przyczyną niebezpiecznych reakcji alergicznych u uczulonych ludzi. Dlatego alergenność larw L3 *A. simplex* jest jednym z najważniejszych patogennych właściwości pasożyta na którą narażeni są konsumenci oraz pracownicy zakładów przetwórstwa rybnego i gastronomii. W pracy przedstawione zostały aktualne informacje dotyczące alergenów *A. simplex*.

Kochanowski M.: Alergeny *Anisakis simplex*. *Alergia*, 2019, 3; 19-21

A*nisakis simplex* jest kosmopolitycznym, pasożytniczym nicieniem, którego żywicielem ostatecznym są ssaki morskie, najczęściej walenie. Żywicielem pośrednim *A. simplex* są skorupiaki, a głowonogi oraz ryby morskie mogą być żywicielem paratenicznym i/lub pośrednim. Obecność *A. simplex* stwierdzono u bardzo wielu gatunków głowonogów i ryb morskich, w tym także konsumpcyjnych o dużym znaczeniu ekonomicznym (m.in. śledź bałtycki, dorsz bałtycki). Człowiek, może stać się żywicielem przypadkowym w wyniku zjedzenia produktów zawierających ryby oraz głowonogi w stanie surowym lub poddanych obróbce niewystarczającej do zabicia występujących w nich żywych larw inwazyjnych (larw III stadium, L3) *A. simplex*. Dotyczy to zwłaszcza takich potraw jak sushi, sashimi, czy marynowane śledzie. Larwy *A. simplex* nie mają możliwości rozwoju w organizmie człowieka i po około 14 dniach giną, lecz mogą powodować objawy choroby zwanej anisakiozą [1].

Objawy anisakiozy

- Anisakioza dotyczy głównie przewodu pokarmowego, zwłaszcza żołądka (anisakioza żołądkowa) lub jelit (anisakioza jelitowa). Larwa *Anisakis* spp. penetrując ścianę przewodu pokarmowego powoduje jego uszkodzenie, zwłaszcza błony śluzowej i może dochodzić do rozwoju ziarniaków eozynofilowych [2].
- W anisakiozie żołądkowej przeważnie występuje ból nadbrzusza, nudności, wymioty, niska gorączka, a objawy te pojawiają się w czasie 1-12 godzin od spożycia żywej larwy L3 *A. simplex* [3].
- Objawy anisakiozy jelitowej występują później niż w postaci żołądkowej, bo po 5-7 dniach od spożycia żywej larwy L3 *A. simplex* i są to: ból brzucha, nudności oraz wymioty [4].

Znacznie rzadziej anisakioza dotyczy innych odcinków przewodu pokarmowego np. przełyku, czy gardła. Sporadycznie larwy L3 *A. simplex* mogą migrować poza światło przewodu pokarmowego do jamy brzusznej, narządów wewnętrznych, tkanki podskórnej (anisakioza ektopowa).

Bardzo istotną postacią kliniczną anisakiozy jest forma żołądkowo-alergiczna, w której obok słabo wyrażonych lub wręcz braku objawów ze strony przewodu pokarmowego występują objawy alergiczne o różnym nasileniu takie jak pokrzywka, obrzęk naczynioruchowy, a nawet zagrażający życiu wstrząs anafilaktyczny [5].

Co roku w Japonii wykrywanych jest 2000-3000 nowych przypadków anisakiozy u ludzi [6], a w Europie około 500 [7]. W Polsce dotychczas opisano jedynie kilka przypadków alergii wywołanych przez *A. simplex* [8]. Prawdopodobnie, liczba opisanych przypadków jest znacznie niższa niż rzeczywista prevalencja. W ostatnim czasie oszacowano, że tylko w samej Hiszpanii liczba przypadków anisakiozy wymagających pomocy medycznej wynosi około 8000 rocznie [9]. Niska wykrywalność zachorowań na anisakiozę wynika przede wszystkim z faktu, iż objawy choroby są mało specyficzne [10, 11] stąd anisakioza bywa mylona m.in. z zapaleniem wyrostka robaczkowego, zapaleniem uchyłka jelita, chorobą Leśniowskiego-Crohna, czy rakiem [12].

Potencjał alergologiczny *Anisakis simplex*

A. simplex uznaje się za pasożyta o największym potencjale alergicznym, a jego alergeny uważane są za jedne z najpowszechniej występujących w żywności ukrytych alergenów [13, 14]. Co więcej, alergeny *A. simplex* zostały zidentyfikowane jako źródło alergii zawodowych dla pracow-



Lek. wet.
Maciej Kochanowski

Mgr inż.
Joanna Dąbrowska

Dr n. wet.
Miroslaw Różycki

Dr hab. n. wet.
Jacek Karamon

Dr n. wet.
Jacek Sroka

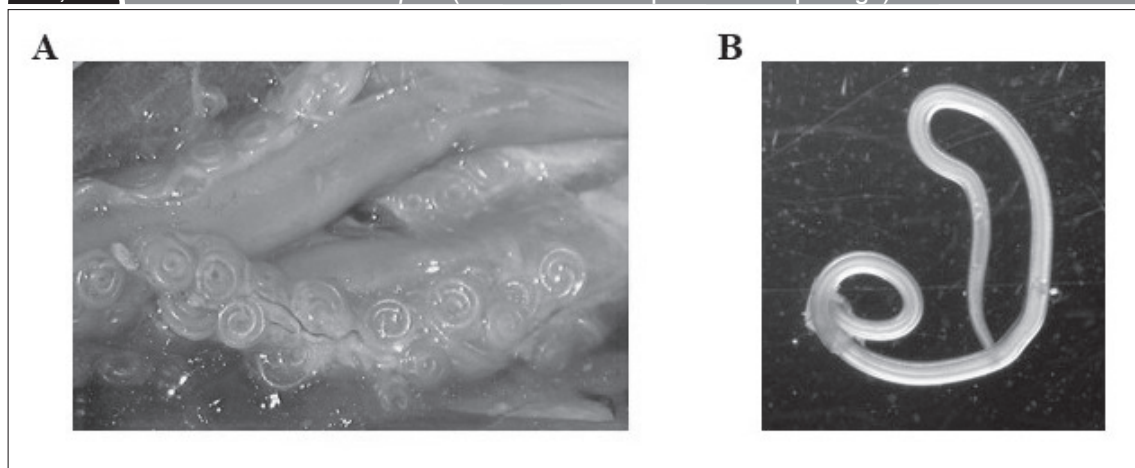
Mgr inż.
Katarzyna Skrzypek

Prof. nadzw.
dr hab. n. wet.
Tomasz Cencek

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy

Słowa kluczowe:
Anisakis simplex, anisakioza, alergen, alergia, pasożyt ryb

Key words:
Anisakis simplex, anisakiasis, alergen, allergy, fish parasite



ników zakładów przetwórstwa rybnego i gastronomii, powodujące takie zaburzenia jak alergiczne kontaktowe zapalenie skóry, alergiczne zapalenie spojówek, czy alergiczna astma oskrzelowa. Dlatego temat uczuleń wywołanych przez *A. simplex* oraz jego alergenów jest jednym z wiodących kierunków badań dotyczących tego pasożyta. Mimo, to wiele aspektów związanych z potencjałem alergicznym *A. simplex* jest wciąż niepoznanych.

Alergeny *Anisakis simplex*

Jak dotąd zidentyfikowano 14 alergenów *A. simplex*. Większość alergenów *A. simplex* (8 alergenów) są to alergeny wydzielniczo-wydalnicze (ES): Ani s 1, Ani s 4, Ani s 5, Ani s 6, Ani s 7, Ani s 8, Ani s 9, Ani s 13. Trzy alergeny *A. simplex* są alergenami somatycznymi: Ani s 2, Ani s 3 oraz Ani s 10. Nie określono jeszcze, czy Ani s 11, Ani s 12 oraz Ani s 14 są alergenami ES, czy też somatycznymi. Uważa się, że alergeny ES są silniejsze i mają wyższe powinowactwo do specyficznych przeciwciał IgE niż alergeny somatyczne [15, 16]. Ponadto zarówno antygen ES, jak i poszczególne alergeny ES mają duże znaczenie w testach immunologicznych do wykrywania inwazji oraz alergii wywołanych przez *A. simplex* [17].

- Ani s 1, Ani s 2, Ani s 7, Ani s 12, Ani s 13 oraz Ani s 14 zaliczane są do alergenów głównych, czyli uczulających ponad 50% pacjentów uczulonych na alergeny *A. simplex* [18, 19].
- Spośród nich Ani s 7, Ani s 2 oraz Ani s 1 uczulają najwyższy odsetek pacjentów, czyli odpowiednio 83-100%, 88% oraz 85%.
- Natomiast alergeny słabe – uczulające mniej niż 50% pacjentów to Ani s 4, Ani s 5, Ani s 6, Ani s 8, Ani s 9, Ani s 10 oraz Ani s 11 [18].

Na szczególną uwagę zasługuje termostabilność alergenów Ani s 1, Ani s 3, Ani s 4, Ani s 5, Ani s 8, Ani s 9, oraz Ani s 10. Tłumaczy to możliwość występowania alergii u uczulonych ludzi poddanych ekspozycji na antygeny martwych law L3 *A. simplex*.

W badaniach przeprowadzonych przez del Pozo i wsp. [20] z *A. simplex* sporządzono ekstrakty i poddano je działaniu wysokiej temperatury (40°C przez 10 minut lub 100°C

przez 20 minut), a następnie użyto je do przeprowadzenia testu skórniego u pacjentów. W obu wariantach temperatury zaobserwowano dodatnie wyniki testu skórniego. Zostało również wykazane, że Ani s 1 oraz Ani s 7 są odporne na warunki autoklawowania (121°C przez 80 minut), po którym alergeny te są w dalszym ciągu zdolne do wiązania przeciwciał IgE oraz aktywacji bazoofilów [21].

Reakcje krzyżowe alergenów *Anisakis simplex*

Występowanie reakcji krzyżowych między alergenami ma duże znaczenie kliniczne, gdyż może prowadzić do występowania objawów alergiczych u osób uczulonych na pierwotny alergen uczulający pod wpływem innego alergenu [22]. Ponadto reakcje krzyżowe alergenów mogą być przyczyną występowania wyników fałszywie dodatnich w testach skórnych i serologicznych [23, 24]. Zjawisko reakcji krzyżowej alergenów wynika z podobieństwa struktury molekularnej epitopów alergenów [25].

Alergeny *A. simplex* wykazują reakcję krzyżową z alergenami wielu innych organizmów, głównie stawonogów jak np. roztocza kurzu [26], karaczany prusaki [27], larwy muchówek z rodziny ochotkowatych [27], rozwiłtiki [27], krewetka północna [27] czy jad osy [28]; oraz pasożytów jak przywra chińska [29], glista ludzka [27], glista psia [30], *Hysterothylacium aduncum* [31].

Ani s 2 (paramiozyna) oraz Ani s 3 (tropomiozyna) są uważane za główne źródło reakcji krzyżowych alergenów *A. simplex*. Paramiozyna i tropomiozyna są panalergenami [32], czyli alergenami szeroko rozpowszechnionymi, występującymi u różnych organizmów i charakteryzującymi się wysokim stopniem konserwatywności sekwencji, struktury, funkcji. Przypuszcza się, że reakcje krzyżowe podobnie jak w przypadku antygenów wielu innych pasożytów mogą być powodowane przez determinanty węglowodanowe, fosforylocholinę [33] czy biotynizowane enzymy [34].

Odpowiedź układu immunologicznego człowieka na alergeny *Anisakis simplex*

Odpowiedź układu immunologicznego człowieka na alergeny *A. simplex* jest bez wątpienia procesem złożonym i wciąż niedostatecznie poznany. Najczęściej



opisywanym typem reakcji nadwrażliwości na alergeny *A. simplex* jest alergia IgE-zależna. Cechą reakcji zależnych od IgE jest krótki czas od zadziałania czynnika sprawczego do wystąpienia objawów. Ten typ odpowiedzi immunologicznej wg Gella i Coombsa określany jest typem I alergii, czyli anafilaktycznym, natychmiastowym. Występuje on przede wszystkim w postaci żołądkowo-alergicznego anisakiozy; oraz alergicznej astmie oskrzelowej [35] i alergicznym zapaleniu spojówek [36], które są spowodowane alergenami *A. simplex*. Notowane były również przypadki wstrząsu anafilaktycznego [37]. Prawdopodobnie alergeny *A. simplex* są odpowiedzialne również za reakcje typu III – reakcje z udziałem kompleksów immunologicznych oraz typu IV – nadwrażliwość typu późnego, komórkowego. Są to reakcje IgE-niezależne i przypadki ich występowania wywołane alergenami *Anisakis* spp. są słabo poznane.

Spośród wielu aspektów dotyczących nadwrażliwości wywoływanych przez alergeny *A. simplex* dyskusyjne są zagadnienia związane z rozwojem pierwotnego uczulenia. Obecnie dominuje przekonanie, że jedynie żywe larwy L3 *A. simplex* mogą indukować rozwój nadwrażliwości na alergeny tego nicienia [38]. Przypuszcza się, że następuje to poprzez aktywne wydzielanie alergenów *Anisakis* spp. do błony podśluzowej w czasie wnikania larwy w ścianę przewodu pokarmowego [39]. Nie mniej, wiele przypadków oraz badań z ostatnich lat wskazuje na to, że alergie są powodowane również przez alergeny martwych larw *A. simplex*, a nawet poddanych działaniu wysokiej (np. sterylizacja) lub niskiej temperatury [40].

Alergeny *Anisakis simplex* w żywności

Przeprowadzono wiele badań dotyczących określenia występowania larw L3 *A. simplex* u różnych gatunków ryb i głowonogów z różnych obszarów połowowych i zaobserwowano, że odsetek wyników dodatnich waha się w bardzo szerokim zakresie od 1 do 100% [41]. Prewalencja *A. simplex* u ryb oraz głowonogów zależy przede wszystkim od ich biologii i sposobu odżywiania [41]. Ponadto wydaje się, że występowanie larw L3 *Anisakis* spp. zależy również od wieku oraz wielkości ryby i charakteryzuje się częstszym występowaniem tego pasożyta u ryb starszych [42]. Larwy L3 *A. simplex* wykrywane były też w produktach rybnych, także w Polsce [43].

Niezwykle rzadkie są badania dotyczące wykrywania alergenów *A. simplex* w żywności. Nic w tym dziwnego, gdyż identyfikacja alergenów w żywności wymaga bardziej zaawansowanych technologicznie metod niż w przypadku wykrywania larw nicienia. Metodami stosowanymi do wykrywania alergenów *Anisakis* spp. w produktach spożywczych są przede wszystkim testy immunoenzymatyczne oraz chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas. Techniki te są szczególnie przydatne do badania silnie przetworzonych produktów rybnych (np. surimi, pasztety rybne), w przypadku których identyfikacja całych larw pasożytów jest niemożliwa. Na podstawie dostępnej literatury wiadomo, że jak dotąd przeprowadzono szerszą ocenę występowania alergenów *Anisakis* tylko produktów rybnych w Norwegii [44]. Z przebadanych 130 próbek przetworzonych produktów 34 było dodatnich.

Fæste, i wsp. [44] badali również surowe ryby dostępne w Norwegii i interesujący jest fakt iż z 91 brzuszków hodowlanych łososi atlantyckich w 38 wykryto antygen *Anisakis*. Ze względu na dość niskie poziomy stężenia antygenu *A. simplex* w dodatknych próbkach autorzy uważają, że produkty te prawdopodobnie nie stanowią zagrożenia dla pacjentów z nadwrażliwością na alergeny *Anisakis* spp.

W innej pracy opisano przypadki alergii u pacjentów uczulonych na alergeny *A. simplex* po spożyciu mięsa kruczków karmionych mączką rybną [45]. Z kolei w tkankach *Danio rerio* karmionych pokarmem zawierającym martwe larwy *A. simplex* również wykrywano obecność antygenu oraz alergenów *Anisakis* spp. [46].

Wyniki badań Armentia i wsp. [45] oraz Fæste i wsp. [46] świadczą o możliwości transmisji alergenów *A. simplex* z mączki rybnej do tkanek karmionych nimi zwierząt, co stwarza poważne ryzyko dla uczulonych konsumentów. Zwłaszcza, że mączka rybna jest powszechnie stosowanym komponentem paszowym.

Alergeny *A. simplex* określane są jako alergeny ukryte. Co to oznacza? Ukryte alergeny żywności są to alergeny, które nie zostały zidentyfikowane w żywności lub wymienione na etykiecie produktu [47].

Szacuje się, że ukryte alergeny są przyczyną około 20% reakcji alergicznych spowodowanych przez żywność [48]. Alergeny *A. simplex* określane są mianem jednych z najczęściej występujących ukrytych alergenów żywności [34, 48].

Añíbarro i wsp. [48] w swoich badaniach zaobserwowali, że alergeny *A. simplex* są przyczyną aż 45,3% reakcji nadwrażliwości spowodowanych przez ukryte alergeny żywności. Natomiast rzadsze są reakcje nadwrażliwości powodowane przez alergeny: roślin strączkowych (10,9%), ryb (9,2%), orzechów (9,2%), skorupiaków (6,7%), jaj (4,2%), owoców (4,2%). Co więcej, alergeny *Anisakis* spp. są przyczyną ponad połowy przypadków wstrząsów anafilaktycznych powodowanych przez ukryte alergeny żywności.

Podsumowanie

A. simplex jest zoonocycznym nicieniem, o prawdopodobnie największym potencjale alergicznym ze wszystkich pasożytów. W larwach L3 *A. simplex* zidentyfikowano 14 alergenów, z których część jest oporna na działanie wysokich i niskich temperatur, a także trawienie pepsyną. Dlatego oprócz żywych larw także martwe, poddane spożywczym procesom technologicznym (np. wędzenie, marynowanie, sterylizacja) mogą być przyczyną reakcji alergicznych u uczulonych ludzi. Alergeny *A. simplex* mogą wywoływać nadwrażliwość typu I (IgE-zależną), a także III i IV. Uczulenia powodowane przez alergeny *Anisakis* spp. mogą towarzyszyć inwazji larw w postaci żołądkowo-alergicznego anisakiozy. Notowane są przypadki zagrażającego życiu wstrząsu anafilaktycznego po spożyciu w pożywieniu larw L3 *A. simplex*. Co więcej, istotne jest iż alergeny *A. simplex* są również przyczyną alergii zawodowych. Wszystkie wymienione powyżej aspekty związane z alergennością *A. simplex* powodują, że pasożyt ten stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego. ■

Prace nadesłano
2.08.2019
Zaakceptowano do
druku 21.08.2019

Konflikt interesów nie występuje.
Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.