

Bibliografía

1. Mathai J, Raju B, Bavdekar A. Pediatric Gastroenterology Chapter, Indian Academy of Pediatrics. Chronic and persistent diarrhea in infants and young children: status statement. Indian Pediatr. 2011;48:37–42.
2. Lee KS, Kang DS, Yu J, Chang YP, Park WS. How to do in persistent diarrhea of children? Concepts and treatments of chronic diarrhea. Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr. 2012;15:229–36.
3. Holtman GA, Lisman-van Leeuwen Y, Reitsma JB, Berger MY. Noninvasive tests for inflammatory bowel disease: a meta-analysis. Pediatrics. 2016;137:1–11.
4. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. JAMA. 2013;310:2191–4.
5. Day AS, Adamji M. Commentary: impact of fecal calprotectin measurement on decision-making in children with inflammatory bowel disease. Front Pediatr. 2017;5:133.
6. Holtman GA, Lisman-van Leeuwen Y, Kollen BJ, Norbruus OF, Escher JC, Kindermann A, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin for pediatric inflammatory bowel disease in primary care: a prospective cohort study. Ann Fam Med. 2016;14:437–45.
7. Salman YJ, Ali CA, Razaq A. Fecal calprotectin among patients infected with some protozoan infections. Int J Curr Microbiol Appl Sci. 2017;6:3258–74.

Esperanza Lepe-Balsalobre^{a,*}, Ricardo Rubio-Sánchez^a,
Cristina Úbeda^b, José M. Úbeda Ontiveros^c

^a Department of Clinical Biochemistry, Valme University Hospital, Seville, Spain

^b Department of Nutrition and Food Science, Toxicology and Legal Medicine, Faculty of Pharmacy, University of Seville, Seville, Spain

^c Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Pharmacy, University of Seville, Seville, Spain

* Corresponding author.

E-mail address: esplepbal@gmail.com

(E. Lepe-Balsalobre).

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2020.07.014>

0213-005X/ © 2020 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Anisakiosis colónica, un caso infrecuente caracterizado molecularmente mediante PCR-RFLP



Colonic anisakiasis, an infrequent case molecularly characterised by PCR-RFLP

La anisakiosis es una zoonosis emergente y subestimada en España, cuya incidencia es la mayor de Europa¹. Los principales agentes etiológicos pertenecen al complejo *Anisakis simplex* sensu lato (s.l.), compuesto por 3 especies gemelas: *Anisakis simplex* sensu stricto (s.s.), *Anisakis pegreffii* y *Anisakis berlandi*. Existen diferentes formas clínicas: anisakiosis gástrica, gastroalérgica, intestinal y ectópica. En la forma intestinal, el íleon terminal suele ser el segmento más afectado², y, por el contrario, el colon y el yeyuno, los menos implicados³.

En este estudio, presentamos un caso de anisakiosis colónica en un varón de 69 años, español, con antecedente de pólipos en colon y polipectomía endoscópica de lesión adenomatosa de 30 mm 2 años antes, al que se le realiza colonoscopia de control. El paciente no refiere clínica digestiva, ni de otro tipo.

En la colonoscopia se observa, además de 3 pólipos sésiles que se extirpan, un gusano blanquecino transparente de 6–8 mm que penetra la mucosa en el colon descendente (fig. 1A), y que se envía al laboratorio para su identificación molecular.

Inicialmente, se realiza una identificación morfológica de la larva extraída al microscopio siguiendo las claves de Petter y Mailard (1988)⁴. La larva, parcialmente destruida, de color blanquecino y de 19 mm, es identificada morfológicamente como compatible con *A. simplex* s.l. Posteriormente, la extracción automatizada del ADN genómico se llevó a cabo empleando el kit comercial QIAamp® DNA FFPE (QIAGEN, Hilden, Alemania) con un paso previo de incubación con proteinasa K y buffer ATL a 56 °C durante toda la noche.

Para la caracterización molecular, los productos de PCR correspondientes a la región ITS1–5.8S–ITS2 del ADN ribosómico son amplificados y posteriormente digeridos con las enzimas de restricción HhaI y HinfI (New England Biolabs, Massachusetts, EE. UU.) según el protocolo descrito por D'Amelio et al. 2000⁵. Los resultados de la PCR (fig. 1B) determinan que el ADN amplificado de la larva presenta un peso molecular (960 pb) compatible con el esperado para el complejo *A. simplex* s.l. El líquido de transporte de la larva también muestra una amplificación a 960 pb, aunque con menor intensidad (amplificación de ADN libre).

En el análisis de los polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) del ADN amplificado, la larva presenta los perfiles característicos descritos para la especie *A. simplex* s.s.⁵ (fig. 1C). La secuenciación confirmó la identificación del genotipo *A. simplex* s.s. y la secuencia se ha anotado en el GenBank (NA: MT516319). Esta presenta elevada homología con otros aislados del mismo genotipo (99,9% NA: MN871437.1, NA: KY973681.1).

La anisakiosis es una patología poco habitual en las regiones más distales del tubo digestivo, siendo infrecuente su presencia en el colon, aunque sí se han llegado a reportar casos en el segmento ascendente^{6,7}. Hasta la fecha, Joo et al.⁸ han sido los únicos que han descrito casos en el segmento descendente, y ninguno ha sido reportado en España.

Las manifestaciones clínicas de la anisakiosis intestinal son bastante diversas, desde una afección asintomática, pasando por dolor abdominal difuso con náuseas, vómitos. . . , hasta un abdomen agudo por perforación intestinal, obstrucción, invaginación, etc.⁸. También se ha postulado la asociación entre la colonización por *Anisakis* spp. y cáncer, debido al posible efecto tumorigénico resultante de la inflamación local persistente, así como al inducido por ciertas secreciones del parásito⁹.

El caso presentado es un paciente asintomático, en el que el hallazgo de anisakiosis fue incidental, sin embargo, se desconoce el pronóstico si se hubiera dejado a su libre evolución. La localización de la larva a nivel del colon descendente dota a nuestro caso de una mayor singularidad. Una de las razones que explicarían por qué es más frecuente encontrar las larvas en el colon ascendente es que, en esta región, el peristaltismo intestinal está enlentecido, y de esta forma la larva encuentra las condiciones idóneas para su penetración y no se ve obligada a migrar hacia regiones más distales del colon⁸.

Las técnicas moleculares son de gran utilidad en el diagnóstico de las anisakiosis intestinales, siendo aplicables incluso cuando la larva se encuentra en mal estado de conservación, lo cual es habitual debido a la manipulación durante el proceso de extracción, o como resultado de la respuesta inmunitaria del paciente al intentar eliminarla. Estas técnicas también proporcionan el genotipado, con una caracterización inequívoca a nivel de especie, a diferencia del estudio morfológico, en el que no solamente hay que tener en cuenta la integridad de la larva, sino también la imposibilidad de distinguir especies gemelas. Además, cabe resaltar su alta sensibilidad, que permite la amplificación e identificación, incluso con el ADN presente en el líquido de transporte de la muestra, como se ha demostrado.

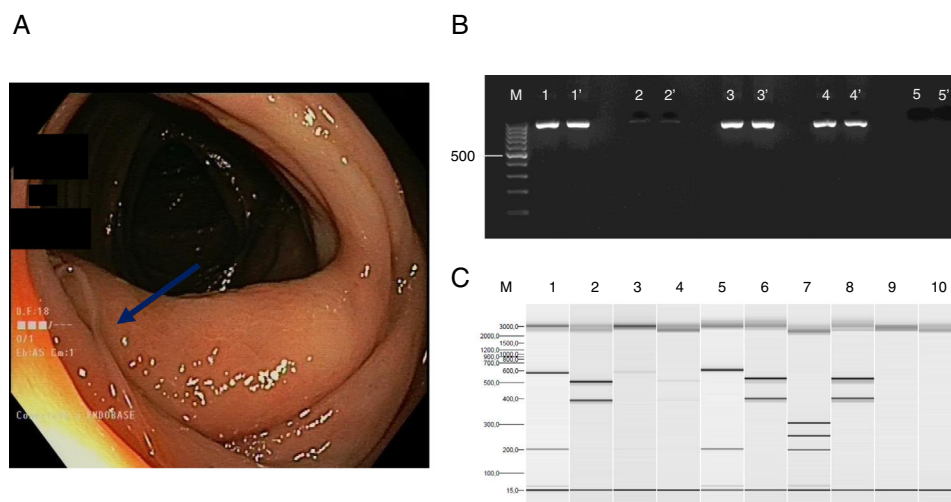


Figura 1. Imagen del parásito en colon, productos de amplificación de PCR y patrón de RFLP. (A) Fotografía de la larva de *A. simplex* s.s. en colon descendente. (B) Productos de amplificación de la región ITS1-5.8S-ITS2. M) Marcador de peso molecular. 1-1') Muestra de larva. 2-2') Líquido de transporte de la muestra de larva. 3-3') Control positivo *A. simplex* s.s. 4-4') Control positivo *A. pegreffii*. 5-5') Control negativo PCR. (C) Patrón de RFLP tras la digestión con las enzimas de restricción HhaI y HinfI, visualizado en equipo de electroforesis capilar, QIAxcel®. M) Marcador de peso molecular. 1) Muestra de larva, HinfI. 2) Muestra de larva, HhaI. 3) Líquido de transporte de la muestra de larva, HinfI. 4) Líquido de transporte de la muestra de larva, HhaI. 5) Control positivo *A. simplex* s.s., HinfI. 6) Control positivo *A. simplex* s.s., HhaI. 7) Control positivo *A. pegreffii*, HinfI. 8) Control positivo *A. pegreffii*, HhaI. 9) Control negativo PCR, HinfI. 10) Control negativo PCR, HhaI.

A pesar del elevado número de casos de anisakiosis diagnosticadas en España, el estudio realizado por Roca-Geronès et al.¹⁰ es el único publicado en el que se realiza la identificación molecular de las larvas, y la especie identificada es la misma que en el caso presentado. El conocimiento a nivel de especie añade el beneficio de aportar información acerca del potencial invasivo y patogénico de cada una de ellas. En este caso, se confirma la capacidad de *A. simplex* s.s. de sobrevivir al jugo gástrico y su potencial de penetración a nivel de colon, previamente reportado por otros autores¹¹.

Financiación

Estudio financiado por los proyectos PI17CIII/00019 - Acción Estratégica de Salud Intramural (ISCIII-AESI) y RD16/0027/0000 - Red de Investigación Cooperativa en Enfermedades Tropicales (RICET). Belén González-Bertolín disfruta de un contrato de ayudante de investigación, PEJ-2017-AI/BMD- 6632,- POEJ-CAM.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no presentar ningún tipo de conflicto de intereses para la realización de este trabajo.

Bibliografía

- Bao M, Pierce GJ, Pascual S, González-Muñoz M, Mattiucci S, Mladineo I, et al. Assessing the risk of an emerging zoonosis of worldwide concern: Anisakiasis. *Sci Rep*. 2017;7:1–17. <http://dx.doi.org/10.1038/srep43699>.
- Repiso Ortega A, Alcántara Torres M, González de Frutos C, de Artaza Varasa T, Rodríguez Merlo R, Valle Muñoz J, et al. Anisakiasis gastrointestinal. Estudio de una serie de 25 pacientes. *Gastroenterol Hepatol*. 2003;26:341–6. [http://dx.doi.org/10.1016/S0210-5705\(03\)70370-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0210-5705(03)70370-7).
- Shirahama M, Koga T, Ishibashi H, Uchida S, Ohta Y, Shimoda Y. Intestinal anisakiasis: US in diagnosis. *Radiology*. 1992;185:789–93. <http://dx.doi.org/10.1148/radiology.185.3.1438764>.
- Petter A, Maillard C. Larves d'Ascarides parasites de Poissons en Méditerranée occidentale. *Bull Mus natn Hist nat*. 1988;2:347–69, section A.
- D'Amelio S, Mathiopoulos KD, Santos CP, Pugachev ON, Webb SC, Picanço M, et al. Genetic markers in ribosomal DNA for the identification of members of the genus

Anisakis (Nematoda: Ascaridoidea) defined by polymerase-chain-reaction-based restriction fragment length polymorphism. *Int J Parasitol*. 2000;30:223–6. [http://dx.doi.org/10.1016/S0020-7519\(99\)00178-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0020-7519(99)00178-2).

- Tsukui M, Morimoto N, Kurata H, Sunada F. Asymptomatic anisakiasis of the colon incidentally diagnosed and treated during colonoscopy by retroflexion in the ascending colon. *J Rural Med*. 2016;11:73–5. <http://dx.doi.org/10.2185/jrm.2914>.
- Amir A, Ngui R, Wan Ismail WH, Wong KT, Ong JSK, Lim YAL, et al. Case report: Anisakiasis causing acute dysentery in Malaysia. *Am J Trop Med Hyg*. 2016;95:410–2. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.16-0007>.
- Joo SK, Kim JW, Kim BG, Kim W, Lee JK, Lee KL. Clinical and endoscopic features of colonic anisakiasis in Korea. *Korean J Parasitol*. 2019;57:411–6. <http://dx.doi.org/10.3347/kjp.2019.57.4.411>.
- García-Pérez JC, Rodríguez-Pérez R, Ballesteros A, Zuloaga J, Fernández-Puntero B, Arias-Díaz J, et al. Previous exposure to the fish parasite anisakis as a potential risk factor for gastric or colon adenocarcinoma. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94. <http://dx.doi.org/10.1097/MD.0000000000001699>.
- Roca-Geronès X, Alcover MM, Godínez-González C, González-Moreno O, Masachs M, Fisa R, et al. First molecular diagnosis of clinical cases of gastric anisakiasis in Spain. *Genes*. 2020;11:452. <http://dx.doi.org/10.3390/genes11040452>.
- Arizono N, Yamada M, Tegoshi T, Yoshikawa M. *Anisakis simplex* sensu stricto and *Anisakis pegreffii*: Biological characteristics and pathogenetic potential in human anisakiasis. *Foodborne Pathog Dis*. 2012;9:517–21. <http://dx.doi.org/10.1089/fpd.2011.1076>.

Belén González-Bertolín^{a,*}, Nerea Hernanz-Ruiz^b,
Ramón Pérez-Tanoira^c y María Jesús Perteguer-Prieto^a

^a Laboratorio de Helmintos, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid, España

^b Servicio de Aparato Digestivo, Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Alcalá de Henares, Madrid, España

^c Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Alcalá de Henares, Madrid, España

* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: belen.gonzalez@externos.isciii.es, belengbertolin@gmail.com (B. González-Bertolín).

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2020.08.018>

0213-005X/ © 2020 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.