

UČESTALOST NALAZA NAMETNIKA *ANISAKIS SIMPLEX* (ANISAKIDAE, NEMATODA) U PLAVOPERAJNOJ TUNI (*THUNNUS THYNNUS*) IZ KAVEZNOG UZGOJA

Žilić¹, J., I. Mladineo¹

SAŽETAK

Anisakis simplex (Anisakidae, Nematoda), je nametnik koji parazitira u utrobi morskih riba i sisavaca. Ljudi se najčešće invadiraju parazitom konzumirajući sirovu, blago mariniranu ili soljenu odnosno nedovoljno toplinski obrađenu ribu, glavonošce ili rakove. *A. simplex* nametnik je brojnih gospodarski značajnih vrsta morskih riba, a među njima i plavoperajne tune (*Thunnus thynnus*), važnog izvoznog proizvoda, stoga su podaci o njegovoj distribuciji značajni ne samo zbog zdravstvenih već i ekonomskih razloga. Učestalost nalaza i brojnost ličinke III stupnja (invazivnog stadija) nametnika istraživana je na uzorku od ukupno 179 plavoperajnih tuna prikupljenih na uzgajalištima u srednjem Jadranu tijekom tri godine. Nametnik je pronađen u 39 uzoraka ribe a prevalencija je iznosila 21,78% prosječne abundancije 2,69.

Ključne riječi: Nematoda, *Anisakis simplex*, plavoperajna tuna, anisakijaza

UVOD

Brojne studije bavile su se pojavom ličinki *Anisakis simplex* (Anisakidae, Nematoda) u morskim koštunjačama i njihovi rezultati ukazali su na velik broj ribljih vrsta podložnih invazijama ovog nametnika (Smith, 1984; Mattiucci i sur., 1996), između ostalih i gospodarski važnih vrsta ribe poput oslića (*Merluccius merluccius*), inćuna (*Engraulis encrasicolus*), bakalara (*Gadus morhua*), haringe (*Clupea harengus*), srdele (*Sardina pilchardus*) (Audicana i sur., 2002), trlje od kamena (*Mullus surmuletus*), trlje od blata (*Mullus barbatus*), ugotice (*Micromesistius poutassou*), šaruna (*Trachurus trachurus*) (Manfre-

di i sur., 2000), a nametnik je izoliran i iz uzgojene kamenice (*Ostrea edulis*). Nabrojene su vrste riba međudomaćini nametnika koji ih nastanjuje kao ličinka III stupnja u stanju mirovanja. U ovom obliku ličinka čeka odgovarajućeg krajnjeg domaćina, najčešće morskog sisavca, kako bi se razvila u adultni oblik.

Ličinka III stupnja ima tanko i duguljasto tijelo, mliječno bijele boje. Parazitira spiralno smotana ispod serozne ovojnice visceralnih organa. Dužina varira s obzirom na starost ličinke od 19 do 27 mm, širine 0,3 do 0,5 mm. Na glavi se nalazi osnovna struktura za identifikaciju nametnika - zubić za bušenje jajne ovojnice, velik do 10 µm. Usmjeren je kranio-lateralno i nadsvođuje otvor ekskretornog kanalića. Usni otvor je ovjenčan s tri široke, trokutaste duplikature kutikule ili usne (dvije ventolateralne i jedna dorzalna). Kutikula ima izbrazdan izgled, debljine 23 µm. Usni otvor se nastavlja u dugi, mišićno-epitelni jednjak oko kojeg se oralno može uočiti ganglijski prsten nametnika. Jednjak se otvara u žljezdani dio ili želudac koji oralno daje jednu, a aboralno drugu slijepu vreću prije nego što pređe u crijevo. Lumen crijeva je prazan, širok oko 210 µm. Završava naglim suženjem ili rektumom u kojeg se ulijevaju izvodni kanali 3-4 kruškolike, fundusom položene oralno, analne žlijezde. Rektum završava anusom. Na samom kraju nametnika uočava se mukron ili repić, značajan u identifikaciji parazita (Grabda, 1976).

Ličinka III stupnja može invadirati čovjeka kao

¹ Jelena Žilić, diplomirani inženjer morskog ribarstva, Dr. sc. Ivona Mladineo, dr.vet.med. Laboratorij akvakulture, Institut za oceanografiju i ribarstvo, Šetalište Ivana Meštrovića 63, 21 000 Split; jelena_pag@yahoo.com

▼ **Slika 1.** Detalj prednjeg kraja ličinke oblića *Anisakis simplex*. Strelica pokazuje zubić za bušenje

▼ **Figure 1.** Detail of anterior part of nematod larva *Anisakis simplex*. Arrow pointing on burrow tooth



▼ **Slika 2.** Stražnji kraj ličinke oblića *Anisakis simplex*. Strelica pokazuje repić ličinke (mukron)

▼ **Figure 4.** posterior end of nematod larva *Anisakis simplex*. Arrow showing larvas lail end (mucron)



slučajnog domaćina u kojem se ličinka ne razvija do odraslog oblika, ali je sposobna penetrirati sluznicu želuca i crijeva, te se naći submukozno, uzrokujući bolest anisakijazu. Anisakijaza je bolest svjetskih razmjera i predstavlja javnozdravstveni problem. Pri tome su značajne i poteškoće pri kliničkoj i histopatološkoj dijagnostici, a bolest može zahtijevati operativni zahvat, čak uzrokovati smrt pacijenta (Pampiglione i sur., 2002). U čovjeka žive ličinke penetriraju želudac 1 do 12 sati nakon konzumacije invadirane hrane, a crijevo mogu penetrirati i do 14

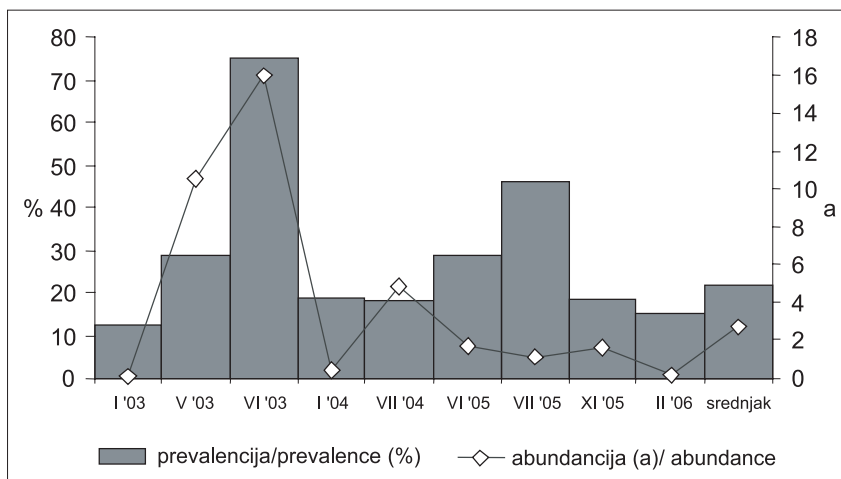
dana nakon konzumacije (Williams i Bunkley-Williams, 1996). Simptomi anisakijaze su uglavnom akutne ali mogu biti i kronične prirode (Ishikura i sur., 1993). Akutni oblik bolesti nastaje najkasnije 48 sati nakon konzumiranja kontaminirane hrane, a očituje se jakim bolovima u trbuhu, mučninom i povraćanjem. Kronični tijek može trajati mjesecima, imitirajući tumor, regionalni enteritis, ulcus ili diverticulitis (Šoša, 2002). Ličinke nametnika kod pacijenata s anisakijazom odstranjuju se kirurškim putem, endoskopijom, te lijekovima - derivatima benzimidazola: mebendazol i albendazol (Montalto i sur., 2005). U Hrvatskoj je u medicinskim krugovima bolest u potpunosti zanemarena i skoro nepoznata, a dijagnoza sporadičnih nalaza temelji se na identifikaciji nametnika. Novija istraživanja ukazuju i na mogućnost alergijskih reakcija nakon konzumiranja ribe koja sadrži uginule ličinke *A. simplex*. Raspon alergijskih reakcija kreće se od lokalnih reakcija na koži i sluznicama do potencijalno letalnih anafilaktičkih reakcija. Prvi znakovi tzv. gastroalergijske reakcije obično se javljaju unutar jednog do dva sata nakon ingestije invadirane ribe (Audicana i sur., 2002). Anisakijaza uglavnom pogađa gastrointestinalni trakt, iako postoje i ektopični oblici s invadiranosti pluća, peritoneuma, limfnih čvorova, jajnika, gušterače i slezene (Pampiglione i sur., 2002). Opisane su i alergijske reakcije uzrokovane inhalacijom alergena *A. simplex* koje su od osobite važnosti za ribare i radnike u industriji morske hrane (Anibarro i Seoane, 1998; Armentia i sur., 1998).

U Jadranskom moru se proteklih godina intenzivno lovi plavoperajna tuna (*Thunnus thynnus*) u svrhu daljnjeg uzgoja. Njezin godišnji ulov dosegao je vrijednost od 1000 tona, s trendom daljnjeg povećanja. Tuna iz uzgoja uglavnom se plasira poleđena na japansko tržište, dok malen dio ostaje za preradu u tvornicama konzervi. Lov se odvija u razdoblju od lipnja do listopada kada se tuna nalazi u dubljim vodama, odnosno dok se ne izlovi određena količina, uz lovostaj od 15. srpnja do 15. kolovoza (Katavić i sur., 2002).

Uzgoj tuna se odvija u kavezima promjera 50 m i dubine 20 m u razdoblju od nekoliko mjeseci do dvije i pol godine. Optimiziranje gustoće nasada od presudnog je značenja za izbjegavanje stresa, pa biomasa po metru kubnom treba biti od 3 do 5 kg.

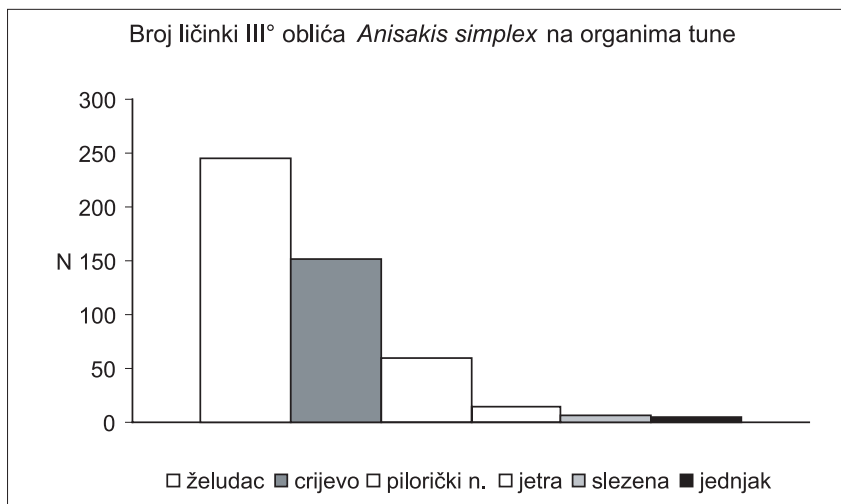
▼ **Slika 3.** Distribucija nametnika *Anisakis simplex* prema mjesecima uzorkovanja.

▼ **Figure 3.** Distribution of the parasite *Anisakis simplex* according to monthly sampling



▼ **Slika 4.** Broj ličinki oblića *Anisakis simplex* u probavnim organima plavoperajne tune

▼ **Figure 4.** Number of larvae *Anisakis simplex* in the organs of blue fin tuna



Riba određena za kavezni uzgoj lovi se zapasom, posebnim mrežama tunolovkama. U ishrani tuna koristi se svježa sitna plava riba - srdela, inćun, skuša, papalina, odnosno smrznuta srdela i haringa pretežno iz uvoza, uz do 10% glavonožaca. Osobito je učestala mogućnost invazije tune obličem *A. simplex* uslijed ishrane invadiranom sitnom plavom ribom. Kako se životni ciklus ovog nametnika uspješno prekida ukoliko se invadirana sitna plava riba zamrzava na temperaturi nižoj od -20°C, duboko

smrzavanje hrane s učincima sitne kristalizacije preporuča se ne samo zbog očuvanja kakvoće hrane tijekom skladištenja i dopreme, već također i zbog sprečavanja invazije uzgajane ribe i prirodne sredine nametnicima.

MATERIJAL I METODE

Uzorkovano je 179 primjeraka plavoperajne tune (*T. thynnus*) prikupljenih na uzgajalištima srednjeg Jadrana. Riba koja je potjecala iz voda južnog Jadrana, oko otoka Jabuke, lovljena je mrežama tunolovkama te prebačena teglećim kavezima do uzgajališta. Tuna je hranjena svježom sitnom plavom ribom (srdela, papalina, inćun, šarun, skuša) i smrznutom ribom iz uvoza (haringa, srdela i srdela golema).

Uzorkovanje je obavljeno u razdoblju od siječnja 2003. do veljače 2006. godine. Uzorci su prikupljeni prilikom uginuća novouvedene tune u kaveze, odnosno prilikom izlova ribe. Obrada uzoraka tune uključivala je evisceraciju ribe i pregled probavnih organa. Nametnik *A. simplex* uočen prilikom parazitološke pretrage izoliran je u Petrijeve zdjelice s morskom

vodom. Pregled nametnika obavljen je pod lupom i svjetlosnim mikroskopom (20, 100, 400x). Identificiran je na osnovu svojih morfoloških osobitosti po identifikacijskom ključu (Grabda, 1976) (Slika 1, 2). Nakon obrade napravljen je polutrajni preparat nametnika fiksacijom u kivetu u 70% etanolu.

Vrijednosti prevalencije i abundancije (brojnosti) nametnika *A. simplex* u uzorcima plavoperajne tune izračunate su prema Bushu i sur. (1997).

REZULTATI I RASPRAVA

Parazitološkom pretragom uzorkovanih tuna uočene su spiralno smotane ličinke III stupnja determinirane kao *A. simplex* u ukupno 39 tuna, nejednoliko raspodijeljene na visceralnoj površini jednjaka, želuca, crijeva, piloričkih nastavaka, slezene i jetre. Izolirane su ukupno 483 ličinke *A. simplex*. Učestalost nalaza (p) nametnika u trogodišnjem razdoblju iznosi 21,78%, s prosječnom brojnošću (a) od 2,69. Distribucija nametnika prema mjesecima uzorkovanja prikazana je u slici 3.

U istraživanom periodu od 2003. do 2006. godine, učestalost nalaza ličinki bila je najveća u lipnju 2003. godine (75%) s brojnošću od prosječno 16 ličinki u ribi. Najniža prevalencija utvrđena je u siječnju 2003. godine (12,5%) s prosječno 0,12 ličinki u ribi.

Brojnost ličinki *A. simplex* mijenjala se ovisno o mjesecu uzorkovanja, pa su najviše vrijednosti zabilježene u ljetnim mjesecima (lipnju i srpnju), odnosno u mjesecima u kojima je uzorkovana „divlja“ tuna neposredno nakon uvođenja u kavezni uzgoj. Shodno tome, niže vrijednosti zabilježene su u siječnju i veljači, mjesecima izlova, nakon određenog razdoblja uzgoja tune. Najveći broj ličinki bio je spiralno smotan na visceralnoj površini želuca, ukupno 245 ličinki, te na visceralnoj površini crijeva (152 ličinke). Ličinke su pronađene u manjem broju kod većine uzorkovanih tuna na visceralnim površinama piloričkih nastavaka, slezene i jetre dok je samo kod jednog primjerka tune *A. simplex* utvrđen spiralno smotan na visceralnoj površini jednjaka (slika 4).

Prisutnost ličinki *A. simplex* u različitom broju, ovisno o sezoni, uočena je i na nekim vrstama ribe uzorkovane u Ligurskom moru (Manfredi i sur., 2000). Visoka prevalencija (100%) zabilježena je u studenom na uzorcima šaruna (*T. trachurus*) i šnjura golemog (*Trachurus picturatus*), dok je učestalost nalaza u lipnju bila niža (80%). Istraživanja pokazuju da su šarun i šnjur golemi vrste najčešće invadirane ličinkama *A. simplex* (Pozzi i sur., 1992). Mladioneo (2003) također naglašava učestalost nalaza parazita od 100% zabilježenu kod inćuna iz Jadranskog mora tijekom zimskih mjeseci (*E. encrasicolus*). Tijekom 4 zimska mjeseca uzorkovanja učestalost nalaza ličinki *A. simplex* iznosila je u skuša (*Scomber scombrus*) 92%, osliću (*M. merluccius*)

88%, lokardi (*Scomber japonicus*) 54% i šarunu (*T. trachurus*) 50%. Uzorkovane vrste riba pokazale su značajnu pozitivnu korelaciju između dužine i broja ličinki.

ZAKLJUČAK

Tijekom tri godine istraživanja parazit *A. simplex* izoliran je u 25% uzorkovanih primjeraka tune, pri čemu je važno istaknuti činjenicu da je njegov broj po uzorku tune iznosio od samo jedne jedinice do 130 nametnika. Učestalost nalaza ličinki u ribi bila je najveća u lipnju 2003. i srpnju 2005. godine, kada su uzorkovane plavoperajne tune mjesec dana nakon njihova uvođenja u kavezni uzgoj, što upućuje da je invazija uslijedila u slobodnoj vodi. Niže vrijednosti zabilježene su u mjesecima izlova, prosincu i siječnju, nakon nekoliko mjeseci uzgoja. Posljedično se može zaključiti da se uzgojem smanji broj nametnika prisutnih u plavoperajnih tuna, iako se tijekom čitavog uzgoja ličinke *A. simplex* preko svježih ribe unose u organizam tune. Uzroci ove pojave zahtijevaju dodatna istraživanja, budući je zabilježen isti trend smanjivanja učestalosti nalaza i broja i drugih nametnika tune.

Neovisno o smanjenju broja ličinki ovog nametnika tijekom uzgoja, pozornost treba usmjeriti na postupke smržavanja svježih ribe kojom se tuna hrani, kako bi se uklonila mogućnost dodatne invazije tijekom uzgoja.

SUMMARY

PREVALENCE OF THE PARASITE ANISAKIS SIMPLEX (ANISAKIDAE, NEMATODA) IN THE BLUE FIN TUNA (THUNNUS THYNNUS) FROM MARICULTURE

Anisakis simplex (Anisakidae, nematoda), is the parasite which lives in the guts of marine fish and mammals. Humans can be infested after consumption of raw, slightly marinated or salted and insufficiently cooked fish, cephalopods and crustaceans. *A. simplex* is the parasite of numerous commercially significant marine fishes, and among them is blue fin tuna (*Thunnus thynnus*) as an important export product, so the data of its distribution are of great concern for both human health and economic reasons. Prevalence and abundance of the parasite 3rd stage larvae (invading form) was investigated on the sample of 179 blue fin tuna collected from the middle Adriatic marine farms during a period of three years. The parasite

was found in 39 samples, with total prevalence of 21.78% and abundance of 2.69, respectively.

LITERATURA

Anibarro B., F.J. Seoane (1998): Occupational conjunctivitis caused by sensitization to *Anisakis simplex*. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 102, 331-332.

Armentia A., M. Lombardero, A. Callejo, J.M. Martin-Santos, F.J. Gill, J. Vega (1998): Occupational asthma by *Anisakis simplex*. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 102, 831-834.

Audicana M.T., I.J. Ansotegui, L. Fernandez de Corres, M.W. Kennedy (2002): *Anisakis simplex*: dangerous- daed and alive. *Trends Parasitol.* 18(1), 20-25.

Bush, A.O., K.D Laffreti, J.M. Lotz, A.W. Shostak (1997): Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisted. *J. Parasitol.* 83, 575-583.

Grabda J. (1976): Studies on the life cycle and morphogenesis of *Anisakis simplex* (Rudolphi, 1809) (Nematoda: Anisakidae) cultured in vitro. *Acta Ichthyol. Pisc.* 6(1), 119-139.

Ishikura H., K. Kikuchi, K. Nagasawa, T. Ooiwa, H. Takamiya, N. Sato, K. Sugane (1993): Anisakidae and anisakidosis. U: *Progress in clinical parasitology*, Vol 3. (Sun T., ed.). Springer-Verlag, New York-Berlin-Heidelberg. Str. 43-102.

Katavić I., V. Tičina, V. Franičević (2002): Bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L.) farming on the croatian coast of the Adriatic sea - present stage and a future plans. *Cashiers* 60, 101-106.

Manfredi M.T., G. Crosa, P. Galli, S. Ganduglia (2000): Distribution of *Anisakis simplex* in fish caught in the Ligurian Sea. *Parasitol. Res.* 86, 551-553.

Mattiucci S., L. Paggi, G. Nascetti, S. D'Amelio, P. Orecchia

(1996): Nuovi dati su ospiti e distribuzione geografica di spezie del genere *Anisakis* Dujardin, 1845 (Ascaridida: Anisakidae) e nuove segnalazioni in grandi pelaiici del Mediterraneo. *Biol. Mar. Medit.* 3, 377-379.

Mladineo I. (2003): *Anisakis simplex* in Adriatic Sea. *Period. Biolog.* 105(4), 389-392.

Montalto M., L. Miele, A. Marcheggiano, L. Santoro, V. Curigliano, M. Vastola, G. Gasbarrini (2005): *Anisakis* infestation: a case of acute abdomen mimicking Crohn's disease and eosinophilic gastroenteritis. *Dig. Liver Dis.* 37, 62-64.

Pampiglione S., F. Rivasi, M. Criscuolo, A. De Benedittis, A. Gentile, S. Russo (2002): Human anisakiasis in Italy: a report of eleven new cases. *Pathol. Res. Pract.* 198, 429-434.

Pozzi P., N. Ciarallo, N. Barile, G. Piermatteo, G. Vallillo (1992): Presenza di larve di *Anisakis* nei prodotti afferenti al mercato ittico di Termoli. *Vet. Ital.* 28, 26-30.

Smith J.W. (1984): The abundance of *Anisakis simplex* L3 in the body-cavity and flesh of marine teleosts. *Int. J. Parasitol.* 14, 491-495.

Šoša B. (2002): Zoonoze i otrovi vezani za ribu, rakove i školjke mora i slatkih voda. *Znanstvena knjižnica Zadar, Zadar*, 2002.

Williams E.H., L. Bunkley-Williams (1996): Parasites of off-shore big game fishes of Puerto Rico and the western Atlantic. Puerto Rico Department of Natural and Environmental Resources, San Juan, PR, and the University of Puerto Rico, Mayaguez, PR, 382.

Received/Prispjelo: 9.5.2006.

Accepted/Prihvaćeno: 12.7.2006. ■

Pretplata

Naručujem pretplatu na 6 (šest) brojeva časopisa MESO po cijeni od 400,00 Kn (za Hrvatsku) ili 70 EUR (za inozemstvo).

ZADRUŽNA ŠTAMPA d.d., Jakićeva 1, Zagreb

Žiro račun kod CENTAR BANKE broj 2382001-1100047014; devizni račun broj 700100-56300-7625

Pretplatu ću platiti na slijedeći način:

(odaberite željeni način plaćanja i čitko unesite potrebne podatke)

- općom uplatnicom
 pouzećem (po primitku prvog broja)
 virmanom na žiro-račun

Ime i prezime _____

Tvrтка za pravne osobe _____

Ulica i broj _____

Telefon _____

MB/JMBG

Mjesto _____

Fax _____

Vlastoručni potpis _____ Datum _____

ZADRUŽNA ŠTAMPA d.d., Jakićeva 1, Zagreb, tel/fax: 01/ 230 13 47, 231 60 50, 231 60 60