

(CSFR). v. 35 (10)p. 937 - 943.

**Krzić M., Mirzada Krzić (1980):** Zastupljenost bakra i cinka u mesu riba sliva rijeke Vrbas. Veterinaria 29, 3 - 4 1980. 549 -559.

**Krzić M. (1981):** Sadržaj olova u ribama sliva rijeke Vrbas uzvodno i nizvodno od priobalnih industrijskih objekata, Veterinaria 1, 93 - 98, Sarajevo.

**Krzić M. (1979):** Kontaminiranost riba živom u riječnom slivu Vrbas uzvodno i nizvodno od priobalnih industrijskih objekata. Mag. rad, Veterinaria 28, 1, 117 - 128, Sarajevo.

**Magos L. (1972):** Journal AOAC 55, 5, 966  
Official methods of Analysis of the AOAC. Vol.1. 15. ed Arlington: AOAC, 237 - 73, 973 - 34, 1990

Analytical Methods for Atomic Absorption. Spectrophotometry. Perkin - Elmer Company, 1969

Pravilnik o količinama pesticida i drugih otrovnih materija, hormona, antibiotika i mikotoksina koji se mogu nalaziti u životnim namirnicama. (Sl. list R B i H 2/ 92, 13/ 94 i 14/ 94).

**Sapunar J., M. Jusić (1979):** Teški metali u ribama. Prehram-

beno - tehnološka rev. 17 (1) 28 - 30.

Specification for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation. WHO, 10. Raport FAO / WHO, No. 373. (1967)

**Tomašević Z., D. Đarmati, M. Vlaković (1988):** Toksični i esencijalni metali u ribama i ribljim proizvodima. Hrana i Ishrana, vol. 29. br.3. 155 - 158.

**Utthe J., E. G. Bligh (1971):** Preliminary survey of heavy metals contamination of Canadian freshwater fishes. J. Fish. Res. Bd Can., 28: 786 - 788.

**Vukašinović M., I. Rajić (1989):** Utvrđivanje kvaliteta i sadržaja nekih mikroelemenata u mesu pastrva. Tehnologija mesa 2, godina XXX 61 - 64

**Windom H. (1973):** Arsenic, cadmium, copper, mercury and zinc in some species of North Atlantic Finfish. J. Fish. Resh. Bd Can.,30: 275 - 279.

\* Rad je u okviru poster sekcije predstavljen na 27. Svjetskom Kongresu veterinarara (25. do 29. rujna 2002. godine, Tunis). ■

# KUDOJA SP. U FILETIMA OSLIĆA

Mladineo<sup>1</sup>, I., I. Listeš<sup>2</sup>

## SAŽETAK

*U radu je opisana identifikacija Kudoa sp. iz smrznutih fileta oslića. Organoleptičkom pretragom fileta oslića utvrđene su na površini fileta duguljaste žuto-bjeličaste, oble i pravilne tvorbe, slične velikim kuhanim zrnima riže, dužine do 1.5 cm, meke konzistencije. Pseudociste su bile smještene u palisadama po dvije ili tri, teško su se izdvajale iz hipaksijalnog mišićja, a na jači pritisak su se pojedine tvorbe raspale u sjajnu sluzavu ili u sirastu masu. Na mjestu u kojemu su pseudociste izolirane, meso ribe nije promijenilo boju ali je bilo vodnjikavo i mekane konzistencije. Prilikom razrezivanja fileta u dubini mišićja, utvrđene su također ovalne tvorbe.*

*Mikroskopskom pretragom nativnog preparata razmaza pseudocista, utvrđene su miksosporidije, Kudoa sp.*

**Ključne riječi:** fileti oslića, Kudoa spp.

## UVOD

Rod Kudoa Meglitsch, 1947 (Myxozoa: Myxosporrea) ubraja za sada 44 miksosporidijska nametnika na morskim i estuarijskim ribama (Kabata i Whita-

ker, 1981). Spora je sastavljena od četiri "školjke" spojene u četiri suturalne linije, od kojih svaka sadrži po jednu polarnu kapsulu u kojoj je namotan polarni filament. Nametnik je histozoičan i parazitira u mišićju riba, iako postoje i rijetke celozoične vrste koje parazitiraju u tjelesnim šupljinama. Spora ima zvjezdasti ili kvadratični oblik, nježne membrane i teško vidljivih suturalnih linija, a unutar spore nalaze se dva jednojezgrema sporoplazma, od kojih jedan obavija onoga drugoga (Moran i sur, 1999).

Specifičnost se *Kudoa* sp. prema domaćinu mijenja s obzirom na vrstu. Neke su vrste strogo specifične a druge, npr. *K. thyrissites* mogu biti utvrđene čak u 20-ak ribljih vrsta. *Kudoa* spp. su izolirane i iz hrskavičnjača, što je općenito rijetkost za miksosporidije (Heupel i Bennett, 1996).

Lom i Dyková (1992) su opisali razvoj trofozoitskih stadija *Kudoa* sp. u domaćinu, zaključivši da nametnik ne proliferira u tkivu u kojem dolazi do formi-

<sup>1</sup>Dr.sc. Ivona Mladineo, Institut za oceanografiju i ribarstvo; POB 500; 21000 Split,

<sup>2</sup>Irena Listeš, dr.vet.med., Veterinarski zavod; Poljička cesta b.b.; 21000 Split.

ranja spora (ekstrasporogonija), već nastali razvojni oblici krvlju dospijeva u mišićje. Kada se učvrste u mišićnom vlaknu, plazmodiji rastu do enormnih razmjera hraneći se pinocitozom i postepeno unutar njih dolazi do formiranja mladih spora. Promjene se histološki ne mogu uočiti prije 9. tjedna od početka invazije (Moran i sur, 1998).

Tek je razvijen plazmodij s već zrelim sporama u stanju pobuditi upalnu reakciju domaćina koja se očituje oblikovanjem vezivno-tkivne ovojnice oko plazmodija, pa nastaje tvorba u tkivu - pseudocista. Lom i Dyková (1995) opisuju pseudociste kao vrećaste tvorbe ograničene gustim vezivom, ali kojima nedostaje unutarnja ovojnica porijeklom od nametnika. Širenjem nametnika u mišićju nastaju multifokalni, kronični upalni procesi, koji međutim nemaju uočljivog utjecaja na fiziologiju, ponašanje ili dužinu života domaćina (Egusa, 1986). Nakon izlova invadirane ribe u mišićju dolazi do promjena nazvanih «mekanim mesom», nastalih uslijed postmortalne miolikvefakcijske autolize. Promjene nastaju uslijed djelovanja proteolitičkih enzima koje izlučuje nametnik. Enzimi nisu porijeklom iz samih spora, već su sastavni dio plazmodija (Stehr i Whitaker, 1986). U akvakulturi, invazije atlantskog i coho lososa s *K. thyrissites* značajan su problem uslijed pojave mekanih lezija u mišićju i posljedičnog pada tržišne vrijednosti invadiranih fileta ribe.

Sakanari (1994) spominje četiri postupka u otkrivanju invazije ribe s *Kudoa* sp. Vizualni pregled svježe ribe je nepraktičan i nesiguran, ali omogućava trenutačno uklanjanje pseudocista iz invadiranog mesa. Drugi postupak je mikroskopski pregled mokrih preparata mišićja, odnosno na živoj ribi uzet biopsat *m. hyohyoideus ventralis* s operkula. Potom, PCR metoda, koja je iako osjetljiva i omogućava utvrđivanje *Kudoa* sp. iz uzorka ribe prije izlova, pogodnija u znanstvenim istraživanjima. Posljednja metoda, imunološki test koji bi omogućio otkrivanje nametničkih antigena u serumu ribe, još je u postupku provjere.

Shulman (1966) međutim preporuča tri osnovna načina kontrole invazije ribe kudoama: smanjenje invazivnih stadija u okolišu, uništavanje vegetativnih stadija u domaćinu i optimalnu zooprofilaksu. Prekidanje biološkog ciklusa nametnika je gotovo nemoguće, budući da spore imaju visoki prag

tolerancije prema uvjetima okoliša, ali ako mogući međudomaćin nastanjuje obraštaj mreža kaveza, tada je često mijenjanje mreža od velikog značenja. Do danas ne postoje kemoterapeutici kojima bi se invazija u konzumne ribe liječila, iako je Fumagilin pokazao dobra svojstva u liječenju drugih mikso-sporidijskih invazija (El-Matbouli i Hoffmann, 1991).

Pojava «mekanog mesa» može se izbjeći i dodavanjem inhibitora proteolitičkih enzima pri obradi ribe. Dobri rezultati se postižu ekstraktom krumpira, bjelanjkom i goveđim proteinima plazme, koji se kompetitivno vežu na aktivna mjesta vezivanja enzima *Kudoa* sp. (Porter i sur, 1993). Nedostatak je što meso mora biti mljeveno, pa je postupak neprimjenjiv kod obrade invadiranih fileta.

## MATERIJAL I METODE

Parazitološkom pretragom je obuhvaćen uzorak smrznutih fileta oslića podrijetlom iz uvoza.

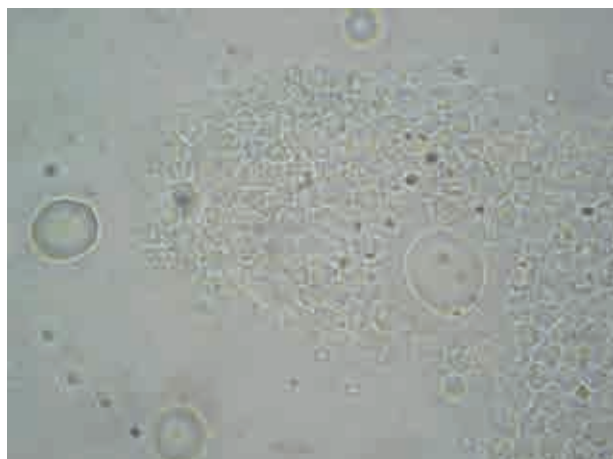
Vizualnim pregledom odmrznutih fileta oslića uočene su i izolirane žućkasto-bjeličaste tvorbe, pseudociste, čvrsto utisnute u hipaksijalno mišićje. Sadržaj pseudociste je pažljivo izdvojen iz ovalnih tvorbi i pomiješan s kapi fiziološke otopine te pretražen mikroskopski. Jednako tako, napravljeno je nekoliko razmaza sadržaja pseudociste, fiksiranih metanolom i bojanih po Giemsi. Za patohistološku pretragu, mišićje oslića zajedno s cistama, dehidrirano je u rastućim koncentracijama alkohola, uklopljeno u parafin Histowax i rezano na debljinu od 6 µm na rotacijskom mikrotomu Leica RM 2155. Rezovi su bojani Mayerovim hemalaun-eozinom. Nametnik je mjereno i identificiran po Johnu i Arthuru, 1989.

## REZULTATI I DISKUSIJA

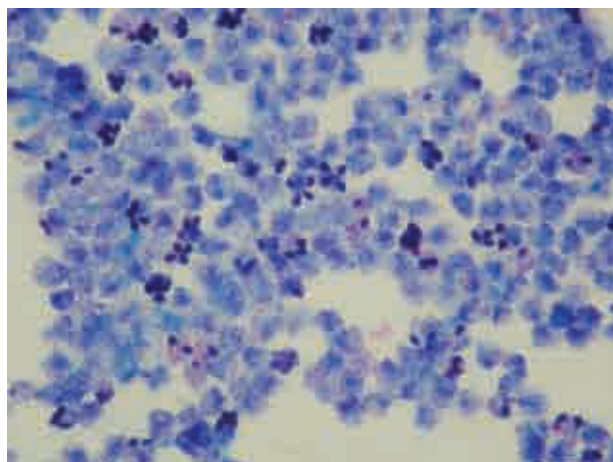
Organoleptičkom pretragom fileta oslića na površini i u dubini fileta utvrđene su duguljaste žuto-bjeličaste, ovalne tvorbe, slične velikim kuhanim zrnima riže, dužine do 1,5 cm, mekane konzistencije. Pseudociste su bile smještene u palisadama po dvije ili tri, teško su se izdvajale iz hipaksijalnog mišićja, a sadržavale su sjajnu sluzavu ili sirastu masu. Na mjestu na kojemu su pseudociste izolirane, meso ribe nije promijenilo boju ali je bilo vodnjikavo i mekane konzistencije.

U nativnom preparatu uočava se zaobljena zvjezdasta struktura spore s četiri slabo izražene i male polarne kapsule (slika 1). Spore su slobodne u lumenu pseudociste, debljine 5,7  $\mu\text{m}$  i duljine 6,3  $\mu\text{m}$ , s polarnim kapsulama dugim do 1,5  $\mu\text{m}$ . U mikroskopskom preparatu obojenom po Giemsi, polarne kapsule se boje intenzivno modro i opažaju se u obliku četveroliste djeteline, dok se u starijim i oštećenim sporama ne boje (slika 2). S obzirom na izgled i dimenzije zrelih spora, vjerojatno je da se radi o invaziji ribe s *K. paniformis*, koja je najčešća miksosporidijska invazija *Merlucciida* (Lom i Dyková, 1992).

▼ **Slika 1.** Nativni preparat *K. paniformis* iz pseudociste u mišiću oslića. 1000 x



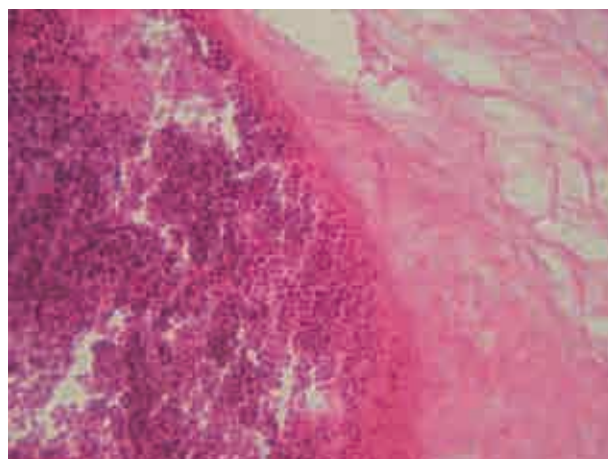
▼ **Slika 2.** Razmaz spora *K. paniformis* bojan po Giemsi. 1000 x



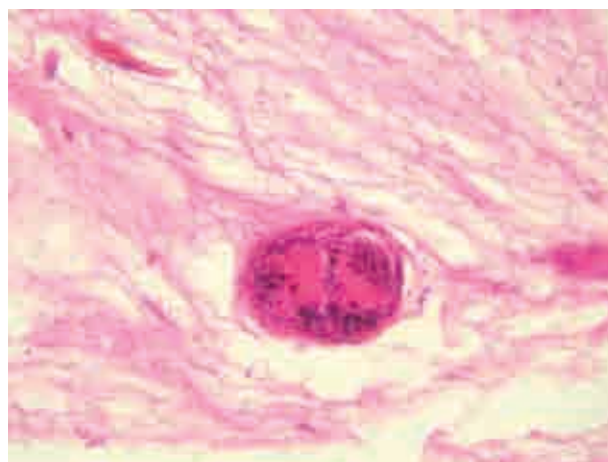
U histološkom preparatu mišićja s pseudocistama vidljiva je čvrsta vezivno-tkivna ovojnica u kojoj se mogu primijetiti izdužene jezgre fibrocita, što govori u prilog o aktivnom procesu tkivne reakcije. Stvaranje ovojnice u tkivu inducirano je tek pri tvorbi plazmodija koji je ispunjen mladim sporama (Lom i sur, 1983). Prije daljnjeg razvoja plazmodija sporogonijom, imunski sustav domaćina nije sposoban identificirati i reagirati na miksosporidije pa se razvojem spora mišićna vlakna uništavaju, uz izostanak reakcije organizma (Morado i Sparks, 1986).

Hemalaun-eozinom spore se boje ružičasto a polarne kapsule modro (slika 3). Kod ranih procesa

▼ **Slika 3.** Histološki prevez pseudociste *K. paniformis* u mišićnom tkivu. 400 x



▼ **Slika 4.** Pseudocista *K. paniformis* u formiranju. Uočavaju se smeđe obojeni melanomakrofagni centri u središtu i gubitak mišićne strukture. 400 x



moгу se uočiti i melanomakrofagni centri u središtu pseudociste što dokazuje upalnu prirodu procesa (slika 4). Melanomakrofagni centri proždiru spore i ponekad mogu dovesti do potpune sanacije tkiva. Budući da su histološki rezovi dobiveni od odmrznutog mesa ribe, vidljiv je gubitak strukture mišićnog tkiva u okolini pseudociste i vakuolizacija tih stanica. Uzrok tome može biti i proteolitičko djelovanje enzima miksosporidija nakon ugibanja domaćina, što je jedna od važnijih karakteristika *K. paniformis* (Lom i Dyková, 1992). Enzimi djeluju pri neutralnom pH, termostabilni su na 55-60 °C a uzrokuju miolikvefakciju tkiva i nastanak pojave mekanog mesa. Stoga, meso ribe invadirano pseudocistama roda *Kudoa* nije upotrebljivo za ljudsku prehranu isključivo zbog smanjenja kakvoće mesa, a ne mogućnosti prijenosa invazije na čovjeka. Riba, odnosno meso ribe s opisanim promjenama ne odgovara u pogledu senzorske ispravnosti odredbama čl. 143, tč. 4 Pravilnika o načinu obavljanja veterinarsko-sanitarnog pregleda i kontrole životinja prije klanja i proizvodnja životinjskog porijekla (NN RH 52/91), a prema odredbama čl. 13, toč. 2 Zakona o hrani (NN RH 117/03 i 130/03) smatra se neprikladnom za ljudsku konzumaciju.

S obzirom da u Jadranskom moru *Kudoa* spp. su izoliran iz kavezno uzgojene ribe (Mladineo, 2003) a sumnji o njejoj nazočnosti u slobodnoživućoj ribi nema, inspekcija kakvoće ribe trebala bi se naročito pooštriti pri uvozu zamrznutih riba porodica *Merlucciida*, *Gadida*, *Clupeida* i *Salmonida* kao i njihovih prerađevina.

## SUMMARY

### **KUDOJA SP. IN FROZEN HAKE FILETS**

*The study describes identification of Kudoa sp. from frozen hake filets. By organoleptic examination of hake filets, elongated yellow-whitish forms, oblique and regular, rice-like and 1,5 cm long, of soft consistency, were identified on the filet surface. Pseudocysts were arranged in palisades in two or three, hard to isolate from hypaxial musculature, and under stronger pressure they collapsed in shiny mucous or cheesy mass. At the site of pseudocysts' isolation, flash didn't change color but was waterish and of soft consistency. After cutting the filets deeper in musculature, the same formations were found.*

*Microscopic examination of fresh pseudocyst smears*

*revealed myxosporidia Kudoa sp.*

**Key words:** *hake filet, Kudoa spp.*

## LITERATURA

**Egusa, S. (1986):** The order Multivalvulida Shulman, 1959 (Myxozoa; Myxosporidia) a review. *Fish Pathol.* 21, 261-274.

**El-Matbouli, M., R.W. Hoffmann (1991):** Prevention of experimentally induced whirling disease in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* by Fumagillin. *Dis. Aquat. Org.* 10, 109-113.

**Heupel, M.R., M.B. Bennett (1996):** A myxosporidian parasite (Myxosporidia: Multivalvulida) in the skeletal muscle of epaulette sharks, *Hemiscyllium ocellatum* (Bonnaterre), from the Great Barrier Reef. *J. Fish Dis.* 19, 189-191.

**Kabata, Z., D.J. Whitaker (1981):** Two species of *Kudoa* (Myxosporidia: Multivalvulida) parasitic in the flesh of *Merluccius productus* (Ayres, 1855) (Pisces: Teleostei) in the Canadian Pacific. *Can. J. Zool.* 59, 2085-209.

**Lom, J., I. Dyková, S. Lhotáková (1983):** *Kudoa lunata* n.sp. (Myxozoa, Myxosporidia) and notes on the nature of muscular "cysts" of the genus *Kudoa*. *Arch. Protistenkd.* 127, 387-397.

**Lom, J., J.R. Arthur (1989):** A guideline for the preparation of species descriptions in Myxosporidia. *J. Fish Dis.* 12, 151-156.

**Lom, J., I. Dyková (1992):** Protozoan parasites of fishes. Elsevier, Amsterdam, pp. 315.

**Lom, J., I. Dyková (1995):** Myxosporidia (phylum Myxozoa). U: Woo, P.T.K. (Ured.), *Fish diseases and disorders*, vol. 1, Protozoan and metazoan infections. CAB International, Wallingford, UK. Pp. 97-148.

**Mladineo, I. (2003):** Myxosporidian infections in Adriatic cage-reared fish. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 23, 113-122.

**Morado, J.F., A. Sparks (1986):** Observations on the host-parasite relations of the Pacific whiting, *Merluccius productus* (Ayres), and two myxosporidian parasites, *Kudoa thyrssites* (Gilchrist, 1924) and *K. paniformis* Kabata & Whitaker, 1981. *J. Fish Dis.* 9, 445-455.

**Moran, J.D.W., M.L. Kent, J. Khattra, J.M. Webster (1998):** Endogenous development of the myxosporidian parasite associated with post-mortem myoliquefaction. *Knjiga sažetaka 39. Annual Western Fish Disease Workshop, 1998, Parksville, British Columbia. Proceedings*, P. 24.

**Moran, J.D.W., D.J. Whitaker, M.L. Kent (1999):** A review of the myxosporidian genus *Kudoa* Meglitsch, 1947, and its impact on the international aquaculture industry and commercial fisheries. *Aquacult.* 172, 163-196.

\*\*\*Pravilnika o načinu obavljanja veterinarsko-sanitarnog pregleda i kontrole životinja prije klanja i proizvodnja životinjskog porijekla (NN RH Br. 52/91)

**Porter, R.W., B. Koury, G. Kudo (1993):** Inhibition of protease activity in muscle extracts and surimi from Pacific whiting, *Merluccius productus*, and arrowtooth flounder, *Atheresthes stomias*. *Mar. Fish. Rev.* 55, 10-15.

**Sakanari, J.A. (1994):** Detecting parasites in fish tissue. U: Conley, D.C. (Ured.), *Kudoa Workshop Proceedings, British Columbia*, p. 11.

**Shulman, S.S. (1966):** Myxosporidia fauna of the USSR. *Izolate'stro Nauka. Moscow - Leningrad. English translation 1988: Myxosporidia of the USSR. Amerind Publ. Co. Pvt. Ltd., New Dehli.* p. 621.

**Stehr, C., D.J. Whitaker (1986):** Host-parasite interaction of the myxosporean *Kudoa paniformis* Kabata and Whitaker, 1981 and *Kudoa thyrssites* (Gilchrist, 1924) in the muscle of Pacific whiting, *Merluccius productus* (Ayres): an ultrastructural study. *J. Fish Dis.* 9, 505-517.

**Whitaker, D.J., M.L. Kent (1991):** Myxosporean *Kudoa thyrssites*: a cause of soft flesh in farmed-reared Atlantic salmon. *J.*

*Aquat. Anim. Health* 3, 291-294.

**Whitaker, D.J., M.L. Kent, L. Margolis (1994):** Myxosporean parasites and their potential impact on the aquaculture industry, with emphasis on *Kudoa* species. U: Conley, D.C. (Ured.), *Kudoa Workshop Proceedings*, British Columbia, p. 2-7.

\*\*\*Zakon o hrani. (NN RH Br. 117/2003; 130/2003 ■)

# BUTIROMETRIJSKO ODREĐIVANJE MASTI U MIŠIĆJU ŠARANA (*CYPRINUS CARPIO*, L.)

Hrastnik<sup>1</sup>, A., B. Njari<sup>2</sup>

## SAŽETAK

*U radu je prikazana mogućnost određivanja masti u mišićju šarana s dva različita postupka uz pomoć butirometra. Dobiveni su rezultati potom uspoređeni s rezultatima određivanja masti prema propisanom postupku po Grossfeldu. Iz dobivenih je rezultata vidljivo da nema značajnih razlika s obzirom na primijenjeni postupak. Prosječna količina masti u butirometrijskim postupcima iznosila je 1,7% odnosno 1,9% dok je količina masti po Grossfeldu bila 1,8%.*

## UVOD

Riba kao animalna namirnica, vrlo je zdrava i cijenjena u prehrani ljudi (Steffens, 1996). Zbog optimalne količine bjelančevina a minimalne količine masti, uz mlijeko i mliječne proizvode riba i riblji proizvodi dobivaju sve veći značaj u kvalitetnoj prehrani ljudi.

Kako navode Marošević (1982), Fauconneau i sur. (1995), te Steffens (1996) najvredniji sastojci ribljeg mesa su bjelančevine, koje uz masti i ugljikohidrate čine osnovu pravilne prehrane. Dakako, uz te osnovne sastojke meso riba sadrži važne mineralne tvari i to: fosfor, kalcij, kalij, željezo u većoj, a jod, cink, arsen, olovo u manjoj količini te vitamine A, D i B kompleksa. U koži riba nalazi se termostabilan i slabije oksidativan vitamin C. Bjelančevine u

mesu riba su lako probavljive dok su masti bogate višestruko nezasićenim masnim kiselinama, koje su, pak, neophodne za ljudski organizam. Dobra resorpcija proistječe iz toga što se od svježje, smrznute ili dimljene ribe resorbira približno 96% bjelančevina, 91% masti, odnosno sveukupno oko 95% sastojaka što se nalaze u mesu riba.

Kemijski sastav ribljeg mesa varira, a ovisi od mnogih čimbenika kao što su: vrsta ribe, dob, veličina, spol i spolna zrelost te vrijeme mrijesta, način ishrane, geografsko područje ulova, godišnje doba i drugo. Meso riba je visokokvalitetna namirnica koja prema Solovejčiku i Besanecu (1979) ima slijedeći sastav: voda 62,0% - 80,0%, bjelančevine 13,8% - 21,8%, masti 0,3% - 18,0% te minerala 1,0% - 3,0%.

Livojević i sur. (1966 i 1973) istraživali su utjecaj ishrane na kvalitetu mesa šarana. Šarani u dobi od dvije do tri godine dohranjivani su raznim krmivima. Na osnovi dobivenih rezultata autori zaključuju da stariji šarani dohranjivani kukuruzom imaju veću količinu masti u mesu u odnosu na one šarane koji su dohranjivani bjelančevinastim krmivima.

S obzirom na sastav, meso riba po mišljenju nekih autora ne zaostaje za mesom toplokrvnih životinja (Francetić, 1952, 1960 i 1967; Tumbas 1975). Riblja

<sup>1</sup>Alen Hrastnik, dr.vet.med., Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Knjižnica Veterinarskog fakulteta

<sup>2</sup>Dr.sc. Bela Njari, redovni profesor, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za higijenu i tehnologiju animalnih namirnica