

*Zakład Chorób Ryb i Biologii, **Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych,
Instytut Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Akademii Rolniczej w Lublinie

LESZEK GUZ*, MARIA BERNADETTA STUDZIŃSKA*,
ANDRZEJ BERNARD SADZIKOWSKI**, JERZY LECH GUNDŁACH**

Larwy Anisakis simplex w wędzonych śledziach

Anisakis simplex larval infestation in smoked herring

STRESZCZENIE

Śledzie (*Clupea harengus*), będące pelagicznymi rybami morskimi, ulegają zarażeniu larwami *Anisakis simplex* przez zjedzenie skorupiaków z rodzaju *Euphausidae*, które są żywicielami pośrednimi tych nicieni. Zjedzenie przez człowieka ryb zarażonych larwami *A. simplex* może wywołać chorobę zwaną anisakiozą.

Celem pracy było zbadanie ekstensywności zarażenia larwami *Anisakis* wędzonych śledzi zakupionych w lubelskich hipermarketach (wschodnia Polska). Larwy *A. simplex* znaleziono w 83,3% badanych ryb pochodzących z trzech hipermarketów (odpowiednio: 70, 90 i 90%). Obserwowano również różną liczbę larw w rybach różnej wielkości.

Słowa kluczowe: *Anisakis*, śledzie

WSTĘP

Anisakioza (syn. anisakidoza łac. *anisakiosis*, *anisakidosis*, ang. hering-worm disease, cod-worm disease) jest chorobą pasożytniczą człowieka, wywołaną przez larwy nicienia *Anisakis simplex*, należącego do rodziny *Anisakidae*. Podobne jak anisakioza objawy mogą wywołać również larwy niektórych gatunków nicieni, należących także do rodziny *Anisakidae*, z rodzajów *Contracaecum*, *Phocascaris*, *Phocanema*, *Terranova*.

Rozwój *A. simplex* jest złożony. Żywicielami ostatecznymi tego nicienia są ssaki morskie, między innymi orki, delfiny, morświny, foki, u których pasożyty lokalizują się w żołądku. Żywicielami pośrednimi są natomiast liczne skorupiaki morskie z gromady pancerzowców (między innymi kryle). W nich rozwijają się larwy inwazyjne III (L₃), zdolne do zarażenia żywiciela ostatecznego. Po zjedzeniu skorupiaków, uwolnione larwy w przewodach pokarmowych ssaków morskich odbywają dwie linki i osiągają dojrzałość płciową.

W cyklu rozwojowym *A. simplex* mogą występować także żywiele parateniczni, którymi są głównie ryby i głowonogi, zjadające skorupiaki zawierające inwazyjne larwy. U zwierząt tych larwy L₃ umiejscawiają się w jamie ciała – pod otrzewną, pod torebką wątroby, między gonadami. Żywiele parateniczni są istotnym źródłem inwazji dla żywicieli ostatecznych.

Dla człowieka źródłem inwazji są głównie ryby zawierające larwy *Anisakis*. Po dostaniu się do przewodu pokarmowego człowieka, larwy penetrują ścianę żołądka i jelita cienkiego. Mogą przenikać także do jamy otrzewnowej oraz przetyku lub krtani. Inwazja może objawiać się złym samopoczuciem, nudnościami, bólami brzucha, wymiotami, biegunką i podwyższoną temperaturą ciała [Bouree i in. 1995]. Stwierdzono także wyższy poziom przeciwciał anty *Anisakis* u pacjentów z chorobą Crohna [Guillen-Bueno i in. 1999]. Larwy mogą również wywołać reakcje alergiczne, które są mylone z alergią na ryby. U ludzi dotychczas odnotowano ponad 35 000 przypadków anisakiozy, głównie w Japonii (ponad 14 000 przypadków), USA, Holandii, Niemczech, Francji i Hiszpanii [Pinkus i in. 1975; Smith i Wootten 1978; Ischikura i in. 1993; Moreno-Ancillo i in. 1997; Ubeira i in. 2000; Baeza i Zubeldia 2001; Audicana i in. 2002].

Najczęściej do zarażenia człowieka larwami *Anisakis* dochodzi po zjedzeniu m.in. fląder, łososi, makreli, sardynek, śledzi i kalmarów. Dla konsumentów w Polsce istotny jest fakt, że występowanie tych pasożytów stwierdzono w rybach morskich zarówno z Atlantyku, jak również z Morza Bałtyckiego [Lubieniecki 1972; Rokicki 1972, 1973; Grabda 1974 Kühlmorgen-Hille 1979, 1983; Weber i Neudecjer 1988; Lang i in. 1990; Tshervontsev i in. 1994; Aspholm 1995, Horbowy i Podolska 2001, Foti i in. 2002; Szostakowska i in. 2002; Podolska i Horbowy 2003]. W Polsce ogółem poławia się około 451,7 tys. ton ryb, z czego 91% (410,7 tys. ton) to ryby morskie, głównie dorszowate (72%), śledzie (12%) i szproty (10,8%).

Biorąc pod uwagę częste występowanie larw nicieni z rodziny *Anisakidae* w rybach morskich, wzrastające spożycie ryb oraz modę na tzw. kuchnię egzotyczną, należy mieć świadomość ryzyka związanego ze spożywaniem surowych lub źle przygotowanych do spożycia ryb morskich. Spośród ryb – żywicieli paratenicznych – na szczególną uwagę zasługują śledzie. Spożywa się je świeże, wędzone (piklingi, kipery) lub w postaci marynat (rolmopsy) i konserw, przechowuje się w stanie solonym (śledziki, matiasy) lub mrożone.

Celem pracy było określenie występowania larw *Anisakis simplex* w wędzonych śledziach sprzedawanych w hipermarketach Lublina.

MATERIAŁ I METODY

Wykonano sekcje parazytologiczne śledzi wędzonych (tzw. piklingi, czyli lekko solone, a potem wędzone na gorąco ryby) zakupionych w trzech hipermarketach w Lublinie. Z każdego sklepu badano 10 losowo wybranych ryb. Każdą rybę mierzono i badano na obecność larw nicieni z rodzaju *Anisakis*. Wyizolowane larwy płukano w 0,9% NaCl, a następnie utrwalano w roztworze zawierającym 9 części 70% etanolu i 1 część gliceryny. Larwy identyfikowano na podstawie cech strukturalnych podanych przez Grabdę [1981].

WYNIKI I OMÓWIENIE

Izolowane podczas sekcji larwy określono jako *Anisakis simplex*. Spiralnie zwinięte, koloru białego osiągały długość ok. 3 cm (od 0,9 do 3,6 cm) i występowały w miejscach typowej lokalizacji: w otrzewnej wzdłuż przewodu pokarmowego, rzadziej pod torebką wątroby, w mięśniach i gonadach (fot. 1). Wszystkie znalezione w rybach larwy nicieni były martwe. Analizując preparaty mikroskopowe stwierdzono, że w miejscu połączenia żołądeczka z jelitem środkowym larwy te pozbawione były ślepo zakończonych wyrostków, co wskazywało na ich przynależność systematyczną.



Fot. 1. Larwa L₃ *A. simplex* w jamie ciała ryby (zaznaczona strzałką) oraz wyizolowane larwy z zarażonych ryb (A)

Phot. 1. Third-stage *A. simplex* larvae isolated from fish (indicated by an arrow) and larvae isolated from infected fish (A)

Jak wynika z piśmiennictwa, żywe larwy *A. simplex* są przezroczyste, o lekko różowym zabarwieniu. Na szczycie odcinka głowowego mają charakterystyczny ząb larwalny, zaś na końcu ciała tzw. mucron – wyrostek kurczliwy o gładkim oskórku. Otwór gębowy prowadzi do gardzieli zakończonej żołądeczkiem, po czym występuje jelito środkowe i jelito końcowe z otworem odbytowym. W miejscu połączenia żołądeczka z jelitem środkowym brak ślepo zakończonych wyrostków, które występują u larw nicieni rodzajów *Contracaecum*, *Phocascaris*, *Phocanema*, *Terranova*.

Należy mieć na uwadze, że klasyfikacja nicieni z rodzaju *Anisakis* jest nadal niejasna. W jego obrębie wyróżniano kilka gatunków (*A. brevispiculata*, *A. pegreffii*, *A. phytoseteris*, *A. schupakovi*, *A. simplex*, *A. simplex C*, *A. typical*, *A. ziphidarum*). Ostatnio prowadzone badania genetyczne mają na celu potwierdzenie systematyki technikami innymi niż dane morfometryczne [Kijewska i in. 2000, Mattiucci i in. 2001, 2004].

Ekstensywność inwazji larw *A. simplex* u badanych ryb wyniosła średnio 83,3% i z poszczególnych sklepów wynosiła odpowiednio 70, 90 i 90%. Na częste występowanie tych pasożytów w rybach morskich zwracają uwagę autorzy krajowi z ośrodków gdańskiego i szczecińskiego. Jest interesujące, że stwierdzano larwy *A. simplex* także u sandaczy z Zalewów Szczecińskiego i Wiślanego [Piasecki i Sobecka 1987, Rolbecki i Rokicki 2000]. Jak wynika z badań prowadzonych w innych krajach, na przykład przez Haysa i in. [1998], ekstensywność zarażenia śledzi wynosiła nawet 95 i 99%. Natomiast Adroher i in. [1996] w badaniach przeprowadzonych w Hiszpanii odnotowali występowanie larw *A. simplex* w 26,1% makreli zakupionych w sklepach przyportowych, stwierdzając jednocześnie różną ekstensywność inwazji u ryb pochodzących z różnych akwenów.

Średnia intensywność inwazji stwierdzona w badaniach własnych wynosiła 10,9 larw w rybie. W odniesieniu do poszczególnych sklepów kształtowała się odpowiednio: 17,8, 13,2 i 3,8 larw i była nieco wyższa od obserwowanej przez Haysa i in. [1998], wynoszącej 6,2 i 6,8.

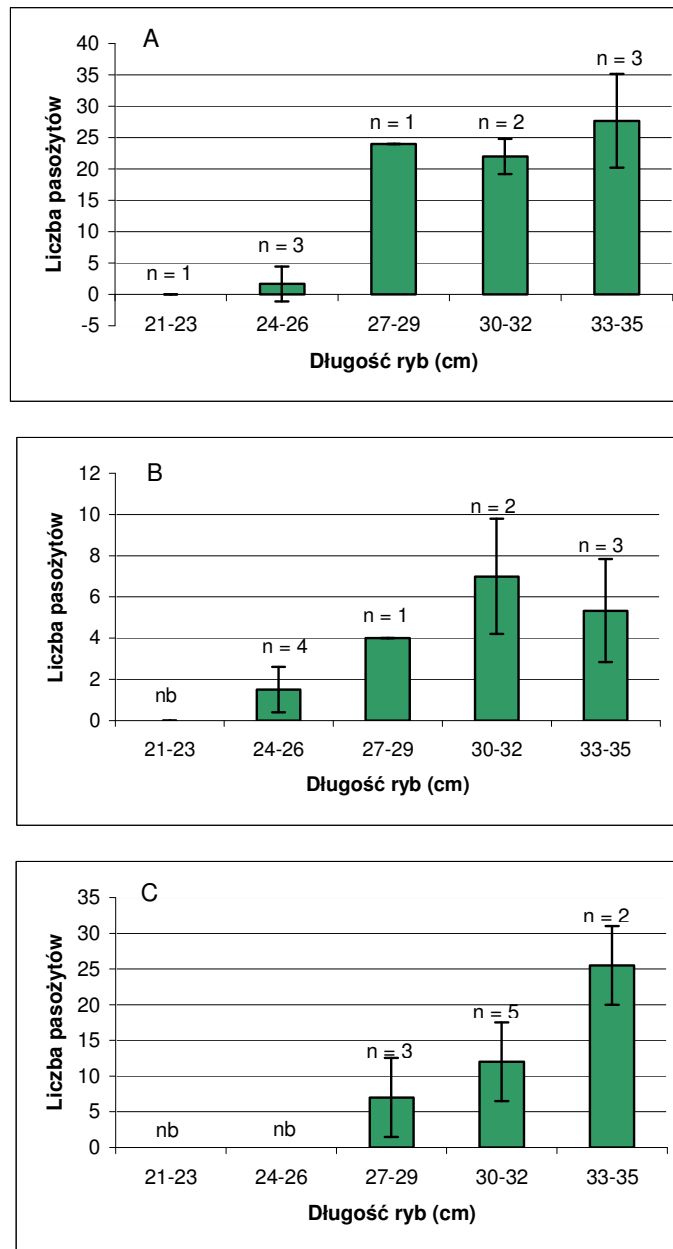
W badaniach własnych obserwowano różnice w intensywności zarażenia pomiędzy rybami mniejszymi i większymi. Niższą intensywność zarażenia notowano u ryb mierzących poniżej 30 cm – 4,6, natomiast u ryb mających powyżej 30 cm wyniosła 15,7. W poszczególnych hipermarketach intensywność inwazji wynosiła: u ryb mniejszych odpowiednio 5,8, 2,0 i 7,0, natomiast u ryb większych – 25,4, 6,0 i 15,8 (rys. 1). Dane te są zgodne z obserwacjami innych autorów, odnotowujących większą liczbę pasożytów z rodzaju *Anisakis* w rybach większych rozmiarów [Lang i in. 1990; Adroher i in. 1996].

Sposób postępowania z rybami i produktami z ryb w celu wykrycia i usunięcia pasożytów zawarty jest w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (RMRiRW) z dnia 24 maja 2004 r. w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji i dla produktów rybołówstwa (Dz. U. Nr 132, poz. 1418), na podstawie art. 5 ust. 2 ustawy z dnia 29 stycznia 2004 r. o wymaganiach weterynaryjnych dla produktów pochodzenia zwierzęcego (Dz. U. Nr 33, poz. 288). Zgodnie z tym rozporządzeniem ryby i produkty z ryb w czasie produkcji i przed ich umieszczeniem na rynku poddaje się kontroli wzrokowej w celu wykrycia i usunięcia widocznych pasożytów. Ryby i produkty z ryb, w których stwierdzono obecność pasożytów nie powinny być przeznaczone do spożycia przez ludzi.

Zgodnie z RMRiRW produkty rybołówstwa pozyskane ze środowiska naturalnego powinny być przed umieszczeniem na rynku (tj. na pokładzie statku rybackiego) poddane wykrwawieniu, odgławianiu, patroszeniu, usuwaniu płetw, schładzaniu lub zamrażaniu (RMRiRW §6, p.1). Ryby i produkty z ryb w stanie surowym powinny być poddane zamrożeniu do temperatury -20°C w każdej części produktu i magazynowane w tej temperaturze nie krócej niż 24 godziny.

Biorąc pod uwagę procesy technologiczne, jakim poddawane są ryby, należy pamiętać, że zabijają one larwy, ale zarówno zamrażanie, jak i wysoka temperatura nie likwiduje ich zdolności do wywołania alergii u ludzi [Kimura i in. 1999; Baeza i San Martin 2000; Baeza i Zubeldia 2001; Audicana i in. 2002; Daschner i in. 2002; Falcão i in. 2002; Foti i in. 2002; Magnaval i in. 2002; Pecquet i in. 2002]. Badania Baeza i Zubeldia [2001] wykazały, że temperatura 100°C w ciągu 10 min powoduje zniesienie alergicznych właściwości białek tylko o dużych i średnich masach cząsteczkowych. Tłumaczy to możliwość braku objawów alergii u niektórych uczulonych ludzi, którzy spożywali larwy L_3 , uprzednio poddane działaniu wysokiej temperatury. U ludzi tych obserwowano jednak objawy alergii po spożyciu larw niepoddanych obróbce cieplnej.

Wzrastająca liczba odnotowywanych przypadków alergii na larwy L_3 *Anisakis* spp. u ludzi związana jest z dokładniejszymi metodami diagnostycznymi dostępnymi w ostatnich latach, jak również stosowaniem tych metod w laboratoriach alergologicznych. Wobec wzrastającej liczby przypadków uczulenia ludzi na larwy L_3 w niektórych krajach Europy, brak doniesień o występowaniu tej choroby w Polsce może sugerować niedostatek diagnostyki oraz to, że objawy alergii są często mylone z uczuleniem na ryby morskie. Monitoring, jak również dokładniejsze badania w tym kierunku wydają się być potrzebne i uzasadnione.



Rys. 1. Liczba larw L_3 *Anisakis* spp. w wędzonych śledziach zakupionych w trzech różnych hipermarketach (A, B i C)

Fig. 1. Variance in prevalence of larval anisakids in herring from three different hypermarkets (A, B and C)

PIŚMIENNICTWO

- Adroher F. J., Valero A., Ruiz-Valero J., Iglesias L. 1996: Larval anisakids (Nematoda: Ascarioides) in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) from the fish market in Granada, Spain. *Parasitol. Res.* 82, 319.
- Aspholm P. E. 1995: *Anisakis simplex* Rudolphi, 1809, infection in fillets of Barents Sea cod *Gadus morhua* L. *Fish. Res.* 23, 375.
- Audicana M. T., Ansotegui I. J., de Corres L. F., Kennedy M. W. 2002: *Anisakis simplex*: dangerous – dead and alive? *Trends Parasitol.* 18, 20.
- Baeza M. L., San Martin M. S. 2000: Heat stability of *Anisakis simplex* larvae antigens. *Alergol. Immunol. Clin.* 15, 240.
- Baeza M. L., Zubeldia J. M., 2001: *Anisakis simplex* allergy. *ACI International* 13, 242.
- Bouree P., Paugam A., Petithory J. C. 1995: Anisakidosis: report of 25 cases and review of the literature. *Comp. Immun. Infect. Dis.* 18, 75.
- Daschner A., Cuéllar C., Sánchez-Pastor S., Pascual C. Y., Martin-Esteban M. 2002: Gastro-allergic anisakiasis as a consequence of simultaneous primary and secondary immune response. *Parasit. Immunol.* 24, 243.
- Falcão H., Lunet N., Neves E., Barros H. 2002: Do only live larvae cause *Anisakis simplex* sensitization? *Allergy* 57, 44.
- Foti C., Nettis E., Cassano N., Di Mundo I., Vena G. A. 2002: Acute allergic reactions to *Anisakis simplex* after ingestion of anchovies. *Acta Dermato-Venereologica* 82, 121.
- Grabda J. 1974: The dynamics of the nematode larvae, *Anisakis simplex* (Rud.) invasion in the South Western Baltic herring (*Clupea harengus* L.). *Acta Ichthyol. Piscat.* 4, 3.
- Grabda J. 1981: *Zarys parazytologii ryb morskich*. PWN, Warszawa.
- Guillen-Bueno R., Gutierrez-Ramos R., Oerteguer-Prieto M. J., Oliveira-Martin A., Fernandez-Blanco I., Pozuelo-García A., Cuellar del Hoyo C. 1999: Anti-*Anisakis* antibodies in the clinical course of Crohn's disease. *Digestion* 60, 268.
- Hays R., Measures L. N., Huot J. 1998: Capelin (*Mallotus villosus*) and herring (*Clupea harengus*) as paratenic hosts of *Anisakis simplex*, a parasite of beluga (*Delphinapterus leucas*) in the St. Lawrence estuary. *Can. J. Zool./Rev. Can. Zool.* 76, 1411.
- Horbowy J., Podolska M. 2001: Modelling infection of Baltic herring (*Clupea harengus membras*) by larval *Anisakis simplex* ICES 58, 321.
- Ishikura H., Kikuchi K., Nagasawa K., Ooiwa T., Takamiya H., Sato N., Sugane K. 1993: Anisakidae and Anisakidosis. *Prog. Clin. Parasitol.* 3, 43.
- Kijewska A., Stomińska M., Węgrzyn G., Rokicki J. 2000: A PCR-RFLP assay for identification of *Anisakis simplex* from different geographical regions. *Mol. Cell. Probes* 14, 349.
- Kimura S., Takagi Y., Gomi K. 1999: IgE response to *Anisakis* compared to seafood. *Allergy* 54, 1225.
- Kühlmorgen-Hille G. 1979: Infestation rate of herring in the western Baltic Sea with *Anisakis* spec. ICES C.M. 5, 7.
- Kühlmorgen-Hille G. 1983: Infestation with larvae of *Anisakis* sp. as biological tag of herring in subdivision 22, western Baltic Sea. ICES C.M. 11, 7.
- Lang T., Damm U., Weber W., Neudecker T., Kühlmorgen-Hille G. 1990: Infestation of herring (*Clupea harengus* L.) with *Anisakis* sp. larvae in the western Baltic. *Arch. Fisch. Wiss.* 40, 101.
- Lubieniecki B. 1972: The occurrence of *Anisakis* sp. larvae (Nematoda) in herring from the southern Baltic. ICES C.M. 21, 5.
- Lunestad B. T. 2003: Absence of nematodes in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in Norway. *J. Food Prot.* 66, 122.
- Magnaval J. F., Berry A., Nadrigny M. 2002: Anaphylactic shock revealing anisakiasis. *Presse. Med.* 31, 1309.

- Mattiucci S., Abauza P., Ramadori L., Nascetti G. 2004: Genetic identification of *Anisakis* larvae in European hake from Atlantic and Mediterranean waters for stock recognition. *J. Fish Biol.* 65, 495.
- Mattiucci S., Paggi L., Nascetti G., Abollo E., Webb S. C., Pascual S., Cianchi R., Bullinil. 2001: Genetic divergence and reproductive isolation between *Anisakis brevispiculata* and *Anisakis physeteris* (Nematoda: Anisakidae). *Int. J. Parasitol.* 31, 9.
- Moreno-Ancillo A., Caballero M. T., Cabanas R., Contreras J., Martin-Barroso J. A., Barranco P., López-Serrano M. C. 1997: Allergic reactions to *Anisakis simplex* parasitizing seafood. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 79, 246.
- Pacquet C., Danis M., Leynadier F. 2002: *Anisakis simplex* and immediate hypersensitivity reactions. *Ann. Dermatol. Venereol.* 129, 303.
- Piasecki W., Sobiecka E. 1987: Przypadki występowania patogennych dla człowieka larw nicieni *Anisakis simplex* w sandaczach *Stizostedion lucioperca* (L.) poławianych w wodach ujściowych Odry. Materiały XV Zjazdu PTP. Katowice, 97.
- Pinkus G. S., Coolidge C., Little M. D. 1975: Intestinal anisakiasis. First case report from North America. *Am. J. Med.* 59, 114.
- Podolska M., Horbowy J. 2003: Infection of Baltic herring (*Clupea harengus membras*) with *Anisakis simplex* larvae, 1992–1999: a statistical analysis using generalized linear models. *ICES* 60, 85.
- Rokicki J. 1972: Larwy *Anisakis* sp. u śledzi *Clupea harengus* L. w Bałtyku, *Wiad. Parazytol.* 18, 89.
- Rokicki J. 1973: Helminths in certain clupeidae, mainly from herring *Clupea harengus* L., in south Baltic. *Acta Parasitol. Pol.* 21, 443.
- Rolbiecki J., Rokicki J. 2000: The occurrence of the Nematodes *Anisakis simplex* pathogenic to man in pikeperch from the Vistula Lagoon, Poland. *Wiad. Parazytol.* 46, 397.
- Smith J. W., Wootten R. 1978: *Anisakis* and anisakiasis. W: *Advances in Parasitology*. W.H.R. Lumsden, R. Muller i J.R. Baker (ed). Academic Press, London.
- Szostakowska B., Myjak P., Kur J. 2002: Identification of anisakid nematodes from the Southern Baltic Sea using PCR-based methods. *Molec. Cell. Probes* 16, 111.
- Tshervontsev V., Fetter M., Bismanis K. 1994: The eastern Baltic herring invaded by *Anisakis simplex* (Rudolphi, 1809) larvae. *ICES C.M.* 11, 5.
- Ubeira F. M., Iglesias R., 2000: Monoclonal antibodies in the study of *Anisakis simplex*. *Allergy* 55, 18.
- Weber W., Neudecker T. 1988: *Anisakis* larvae in herring of the western Baltic. *ICES C.M.* 2, 8.

SUMMARY

Herrings (*Clupea harengus*) are pelagic fish which may become infected with *Anisakis simplex* larvae by consumption of euphausiids, which are intermediate hosts of these nematodes. The ingestion of *A. simplex* larvae parasitized fish can cause human anisakiosis. The aim of this study was to examine the prevalence of larval anisakids in smoked herrings from the supermarkets in Lublin (eastern Poland). Larval anisakids were found in 83.3% of the fish examined; in three supermarkets – 70, 90 and 90%, respectively. The variation in infection levels with host size was surveyed.

Key words: *Anisakis*, herring