

"Prisutnost parazita Anisakis spp. u odabranim vrstama ribe s dubrovačke ribarnice"

Karović, Stela

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Dubrovnik / Sveučilište u Dubrovniku**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:155:378334>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-27**



SVEUČILIŠTE U DUBROVNIKU
UNIVERSITY OF DUBROVNIK

Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Dubrovnik](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U DUBROVNIKU
ODJEL ZA PRIMIJENJENU EKOLOGIJU
DIPLOMSKI STUDIJ MARIKULTURA

DIPLOMSKI RAD

Prisutnost parazita *Anisakis* spp. u odabranim vrstama ribe s dubrovačke
ribarnice

Dubrovnik, rujan 2022.

SVEUČILIŠTE U DUBROVNIKU
ODJEL ZA PRIMIJENJENU EKOLOGIJU
DIPLOMSKI STUDIJ MARIKULTURA

DIPLOMSKI RAD

Prisutnost parazita *Anisakis* spp. u odabranim vrstama ribe s dubrovačke
ribarnice

Student: Stela Karović

Mentor: doc. dr. sc. Tatjana Dobroslavić

Komentor: prof. dr. sc. Adnan Jažić

Dubrovnik, rujan 2022.

Ovaj diplomski rad izrađen je pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Tatjane Dobroslavić i prof. dr. sc. Adnana Jažića, u sklopu diplomskog studija Marikultura na Odjelu za primijenjenu ekologiju Sveučilišta u Dubrovniku.

SAŽETAK

Anisakis spp. Dujardin, 1845 je parazit koji invadira utrobu morskih riba i sisavaca. Pronađen je u mnogim ekonomski važnim i tržišno dostupnim vrstama riba koje nastanjuje u obliku L3 ličinki iz kojih se dalje prenosi u morske sisavce u kojima se razvija do odraslog stadija. Uzrokuje stalni gubitak energije, što značajno utječe na fiziologiju i ponašanje domaćina. Koliko je intenzivna promjena ovisi o količini parazita, te životnom stadiju domaćina. Ljudi se mogu zaraziti konzumiranjem invadirane ribe, ali su slučajni domaćini, budući da prijenos parazita na ljude ne može rezultirati potpunim životnim ciklusom parazita. Cilj istraživanja ovog rada je analiza i pregled na prisutnost ovog parazita u pet tržišno dostupnih vrsta s dubrovačke ribarnice, a to su oslić *Merluccius merluccius* Linnaeus, 1758, srdela *Sardina pilchardus* Walbaum, 1792, šarun *Trachurus trachurus* Linnaeus, 1758, bukva *Boops boops* Linnaeus, 1758 i trlja od blata *Mullus barbatus* Linnaeus, 1758. Ukupno je analizirano 210 jedinki duljine od 11,4 do 45,9 cm, od kojih je 67 jedinki bilo invadirano parazitom *Anisakis* spp, u vrstama oslić i šarun, dok u ostale tri nije nađen niti jedan parazit.

Ključne riječi: paraziti, *Anisakis*, anisakijaza, domaćin

ABSTRACT

Anisakis spp. Dujardin, 1845 is a parasite that invades the intestines of marine fish and mammals. It is found in many economically important and marketable fish species that are in the form of L3 larvae, from which it is further transferred to marine mammals, where it develops to the adult stage. It causes a constant loss of energy that significantly affects host physiology and behavior. How severe the changes are depends on the amount of parasite and the life stage of the host. Humans can become infected by consuming infested fish, but are accidental hosts because transfer of the parasite to humans cannot result in a complete life cycle of the parasite. The aim of this study is to analyze and verify the presence of this parasite in five commercial fish species from Dubrovnik fish market, namely in European hake (*Merluccius merluccius* Linnaeus, 1758), in sardine (*Sardina pilchardus* Walbaum, 1792), in Atlantic horse mackerel (*Trachurus trachurus* Linnaeus, 1758), in bogue (*Boops boops* Linnaeus, 1758) and in striped red mullet (*Mullus barbatus* Linnaeus, 1758). A total of 210 individuals ranging in total length from 11.4 to 45.9 cm were examined, of which 67 individuals in European hake and Atlantic horse mackerel were infested with the parasite *Anisakis* spp. while no parasites were found in the other three species.

Key words: parasites, *Anisakis*, anisakiasis, host

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Taksonomija	2
1.2. Životni ciklus	4
1.3. Utjecaj na fiziologiju	6
1.4. Anisakijaza	7
1.5. Analizirane vrste	9
1.5.1. Oslič	9
1.5.2. Srdela	10
1.5.3. Šarun	10
1.5.4. Bukva	11
1.5.5. Trlja	12
1.6. Dosadašnja istraživanja	13
1.7. Ciljevi istraživanja	14
2. MATERIJALI I METODE	15
2.1. Obrada uzoraka	15
2.2. Indeks kondicije	15
2.3. Gonadosomatski indeks	15
2.4. Nalaz parazita	15
2.5. Statistička obrada podataka	16
3. REZULTATI	17
3.1. Analiza sastava populacija	17
3.1.1. Analiza sastava populacije oslića	17
3.1.2. Analiza sastava populacije srdele	19
3.1.3. Analiza sastava populacije šaruna	22
3.1.4. Analiza sastava populacije bukve	25
3.1.5. Analiza sastava populacije trlje	28
3.2. Indeks kondicije	31
3.2.1. Indeks kondicije oslića	31
3.2.2. Indeks kondicije srdele	32
3.2.3. Indeks kondicije šaruna	33
3.2.4. Indeks kondicije bukve	33

3.2.5.	Indeks kondicije trlje	34
3.3.	Gonadosomatski indeks	35
3.3.1.	Gonadosomatski indeks oslića	35
3.3.2.	Gonadosomatski indeks srdele	35
3.3.3.	Gonadosomatski indeks šaruna	36
3.3.4.	Gonadosomatski indeks bukve	37
3.3.5.	Gonadosomatski indeks trlje	37
3.4.	Nalaz parazita	38
3.4.1.	Nalaz parazita u osliću	39
3.4.2.	Nalaz parazita u šarunu	42
4.	RASPRAVA	44
5.	ZAKLJUČAK	47
6.	LITERATURA	48

1. UVOD

Okolišni uvjeti mogu izazvati stres kod uzgajanih i ulovljenih riba. Stres izaziva fiziološki odgovor koji uvjetuje organizam da se prilagodi novonastalim uvjetima što može dovesti do poremećaja homeostaze. Kako riba dolazi u dodir sa stresom, tako dolazi do otpuštanja hormona stresa, koji utječu na ponašanje, optjecajni sustav i cjelokupno stanje organizma. Posljedice produljenog stresa u uzgojnim uvjetima su smanjenje proizvodnje, rasta i otpornosti na bolesti (Green i Haukenes, 2015).

Paraziti u interakciji sa prirodnim i antropogenim stresorima imaju za rezultat povećanje smrtnosti. Sami paraziti su prirodni stresori koji po definiciji imaju štetne učinke na svoje domaćine, a kada se kombiniraju sa drugim stresorima postaju iscrpljujući i dovode do ugibanja (Marcogliese i Pietrock, 2011). Prema Allan i sur. (2020), paraziti mogu činiti značajan dio biomase u morskim zajednicama i zbog toga igraju značajnu ulogu u funkcioniranju ekosustava. Rijetko uzrokuju izravnu smrt, ali stvaraju stres tako što troše energiju što značajno utječe na fiziologiju zaraženog organizma. Težina njihovog djelovanja ovisi o vrsti i stadiju parazita i domaćina. Ličinke i mlađ imaju slabiju obranu od infekcije u odnosu na odrasle jedinke.

Kod ulovljenih vrsta prijenos parazita je u snažnoj interakciji sa ribarstvom. Ove interakcije mogu biti pozitivne ili negativne. Parazitizam može doprinijeti propasti ribarstva, ali i ribarstvo može dovesti do uklanjanja parazita iz prirodnog ribljeg fonda. Također može dovesti i do širenja parazitizma odbacivanjem zaraženih organizama natrag u more (Lafferty i Kuris, 1999). Teoretski, komercijalni ribolov koji smanjuje brojnost ribolovnih vrsta također smanjuje stope parazitizma te vrste. Ova pretpostavka dolazi iz klasične epidemiološke teorije (Kermack i McKendrick, 1927) gdje se raspravlja da postoji minimalna nasadna gustoća domaćina ili prag domaćina, ispod kojeg paraziti neće opstati, jer prijenos na nove jedinke mora biti veći od gubitka zaraženih domaćina. Uslijed niske nasadne gustoće dolazi do premalo interakcija domaćina da bi bilo moguće doći do prijenosa parazita. Jednom kada parazit napadne populaciju, može potrajati samo dok je nasadna gustoća domaćina dovoljno visoka za prijenos parazita.

Anisakis spp. Dujardin, 1845 parazit je koji invadira utrobu morskih riba i sisavaca. Ovaj nametnik zabilježen je kod brojnih ekonomski važnih vrsta poput oslića, incuna *Engraulis encrasicolus* Linnaeus, 1758, bakalara *Gadus morhua* Linnaeus, 1758, haringe *Clupea harengus* Linnaeus, 1758, srdele, trlje od kamena *Mullus surmuletus* Linnaeus, 1758, trlje od

blata, ugotice *Micromesistius poutassou* Risso, 1827, šaruna i tune *Thunnus thynnus* Linnaeus, 1758. Ove vrste nastanjuje u obliku ličinke L-3, iz kojih se dalje prenosi u morske sisavce u kojima se razvija do odraslog stadija (Mladineo, 2003).

Prema Levsen i Berland (2012), povijesno gledano, samo nekoliko vrsta bilo je prepoznato unutar roda *Anisakis*, s *Anisakis simplex* Rudolphi, 1809 kao najraširenijom i najintenzivnije proučavanom vrstom. Međutim, na temelju biokemijske i molekularne obrade sada postoji devet vrsta podijeljenih u dvije filogenetske skupine.

1.1. Taksonomija

Anisakis pripada koljenu *Nematoda*, razredu *Chromadorea*, podrazredu *Chromadoria*, redu *Rhabditida*, podredu *Spirurina*, infraredu *Ascaridomorpha*, nadporodici *Ascaridoidea* i porodici *Anisakidae* (www.marinespecies.org). Taksonomija roda *Anisakis* spp. tradicionalno se oslanjala na morfologiju odraslih. Prema Davey (1971), primarni čimbenici su duljina i oblik ventrikula, duljina i oblik muških spikula, i raspored muških kaudalnih papila. Prema Berland (1961), morfološke značajke ličinke (tj. duljina ventrikula i prisutnost/odsutnost kaudalne kralježnice) mogu razlikovati *Anisakis* tip I i *Anisakis* tip II (Mattiucci i sur., 2008).

Prema genetskim podacima, u prvu skupinu se može uključiti šest vrsta: a) *A. simplex* Rudolphi, 1809, b) *Anisakis pegreffii* Campana-Rouget i Biocca, 1955, c) *Anisakis berlandi* Mattiucci, Cipriani, Webb, Paoletti, Marcer, Bellisario, Gibson i Nascetti, 2014, d) *Anisakis typica* Diesing, 1860, e) *Anisakis ziphidarum* Paggi, Nascetti, Webb, Mattiucci, Cianchi i Bullini, 1988, i novi genski fond koje se naziva f) *Anisakis* sp.. Sve ove vrste imaju ličinački oblik poznat kao tip I (Mattiucci i sur., 2008).

a) *A. simplex* je rasprostranjen između 35° sjeverno i Arktičkog kruga. Prisutan je u zapadnom i istočnom Atlantiku i Tihom oceanu. Južna granica ove vrste u sjeveroistočnom Atlantiku su vode oko područja Gibraltara. Također je prisutan u vodama zapadnog Sredozemlja zbog migracije pelagičnih vrsta riba u Alborsko more iz Atlantika. *A. Simplex* do sada je genetski prepoznat u devet vrsta kitova. Pronađeno je nekoliko vrsta lignji i riba koje nose ove ličinke na cijelom svom zemljopisnom području. Zajednička područja između *A. simplex* i *A. pegreffii* identificirana su uzduž španjolske i portugalske obale Atlantika, u Alboranskom moru, a odnedavno i u japanskom morskim vodama. *A. simplex* također se javlja sa *A. berlandi* u istočnom Tihom oceanu, gdje je identificirani u konačnim i srednjim domaćinima. Ova vrsta je glavni uzročnik infekcija kod ljudi u Japanu (Mattiucci i sur., 2008).

b) *A. pegreffii*, prethodno označen kao *A. simplex* A, je dominantna vrsta u Sredozemnom moru, široko rasprostranjen u svim vrstama riba. Najvažnija anisakidna nematoda u nekoliko pelagičnih i pridnenih vrsta riba u Mediteranu. Također je široko rasprostranjen u odraslom i ličinačkom stadiju u Australskoj regiji između 30° sjeverno i 55° južno. U atlantskim vodama, sjevernu granicu njegovog zemljopisnog raspona predstavlja iberijska obala, a do sada nije zabilježen u zapadnom Atlantiku. Identificiran je u ličinačkom stadiju u nekim ribama u iz japanskim i kineskim vodama (Mattiucci i sur., 2008).

c) *A. berlandi* trenutno pokazuje diskontinuirani raspon uz kanadsku i čileansku obalu Pacifika, u vodama Novog Zelanda i južnoafričkoj obali Atlantika. Ova vrsta je identificirana u odraslom stadiju u kitovima i kao ličinka se javlja zajedno s *A. pegreffii* kod nekih vrsta riba. Također je povremeno nađen u vodama sub-Antarktika i sjeveroistoka Tihog oceana (Mattiucci i sur., 2008).

d) *A. typica* ima raspon od 30° južno do 35° sjeverno u umjerenim toplijim i tropskim vodama. Na tim područjima pronađen je u odraslom stadiju kod nekih vrsta dupina i u ličinačkom stadiju kod nekoliko vrsta riba. Također je identificiran u prugastom dupinu *Stenella coeruleoalba* Meyen, 1833, i u osliću u istočnom Sredozemlju u blizini Cipra. Njegova prisutnost u tim vodama mogao bi biti rezultat lesepsijskih migracija iz Indijskog oceana (Mattiucci i sur., 2008).

e) *A. ziphidarum* je prvi put opisan, genetski i morfološki, u odraslom stadiju u kljunastim kitovima *Mesoplodon layardii* Gray, 1865 i *Ziphius cavirostris* Cuvier, 1823 iz južnog Atlantskog oceana (kraj južnoafričke obale). Kasnije je zabilježen i u Sredozemnom moru. Identificiran je u odraslom stadiju u drugim vrstama kljunastih kitova, kao što su *Mesoplodon mirus* True, 1913 i *Mesoplodon grayi* von Haast, 1876, u vodama južnog Atlantika i u *Mesoplodon sp.* i *Z. cavirostris* u vodama Kariba. Njegov zemljopisni raspon je širok i povezan je s onim njegovog konačnog domaćina. Nema dovoljno podataka o infekciji u ribama i lignjama, ali ima nisku prevalenciju infekcije kod nekih vrsta riba kao što su oslić i *Aphanopus carbo* Lowe, 1839 u vodama središnjeg Atlantika (Mattiucci i sur., 2008).

f) *Anisakis sp.* je otkriven samo ličinačkom stadiju L4 u kljunastih kitova iz južnoafričkih i novozelandskih voda. Utvrđeno je da je genofond reproduktivno izoliran od simpatrijske vrste *A. ziphidarum* koja se javlja u istim domaćinima i zemljopisnoj regiji. Genetski se vrlo razlikuje se od ostalih vrsta Anisakisa, ali je najbliži srodnik *A. ziphidarum*. Ova vrsta je identificirana u ličinačkom stadiju u lignji *Moroteuthopsis ingens* E. A. Smith, 1881 u vodama Tasmanskog

mora. Čini se da ova vrsta radije invadira lignje nego ribe u svom životnom ciklusu (Mattiucci i sur, 2008).

U drugoj skupini imamo tri vrste: a) *Anisakis physeteris* Baylis, 1920, b) *Anisakis brevispiculata* Dollfus, 1966 i c) *Anisakis paggiae* Mattiucci, Nascetti, Dailey, Webb, Barros, Cianchi & Bullini, 2005 (Mattiucci i sur, 2008).

a) *A. physeteris* populacija bilo je prvo karakterizirana svojim glavnim konačnim domaćinom ulješurinom *Physeter macrocephalus* Linnaeus, 1758, iz mediteranskih voda. Ličinke tipa II *A. physeteris* su genetski identificirane u samo nekoliko vrsta riba, osim sabljarkarke *Xiphias gladius* Linnaeus, 1758 u Mediteranu i atlantskim vodama u kojima predstavlja glavnu vrstu *Anisakisa* (Mattiucci i sur, 2008).

b) *A. brevispiculata* populacija je u početku bila karakterizirana nalazima u maloj ulješuri *Kogia breviceps* Blainville, 1838, u Južnoj Africi i na sjeveroistoku Atlantskih voda uz iberijsku obalu. Pokazana je izolacija od morfološki srodne *A. physeteris*, čime je utvrđena valjanost *A. brevispiculata*. Utvrđeni su i kao rijetki paraziti u osliću i sabljarki u atlantskim vodama (Mattiucci i sur, 2008).

c) *A. paggiae* je vrsta koja je prvi put genetski karakterizirana i morfološki opisana u odraslom stadiju u *Kogia breviceps* i *Kogia simus* Owen, 1866 uz obalu Floride i južnoafričku obalu Atlantika. Do sada su dostupni oskudni podaci o identifikaciji međudomaćina u životnom ciklusu *A. paggiae*. Vrlo malo ličinki tipa II je identificirano u ribljim vrstama iz atlantskih voda, osim u osliću i sabljarki, što sugerira da drugi domaćini koji su uključeni u životni ciklus ove vrste još nisu otkriveni (Mattiucci i sur, 2008).

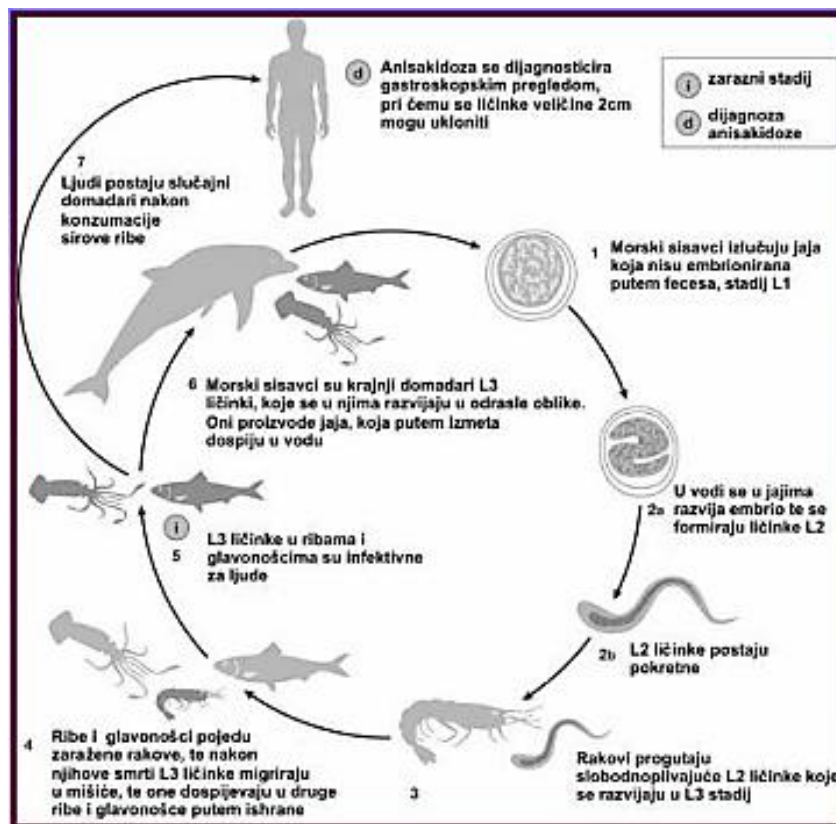
1.2. Životni ciklus

Paraziti vrste *Anisakis* spp. imaju neizravne i složene životne cikluse koji za konačnog domaćina imaju različite vrste kitova. Planktonski organizmi su prvi posrednici i služe za transport, a ribe i lignje su drugi posrednici, također korišteni za transport (Levsen i Berland, 2012).

Odrasle jedinice *Anisakis* spp. žive u želudcu raznih kitova i dupina. Nakon posljednja dva sazrijevanja i razmnožavanja, ženke izbacuju jajašca koja su s fecesom konačnog domaćina izbačena u more (Levsen i Berland, 2012). Jaja ili L1 stupanj imaju prozirnu i glatku ljusku, okrugli su ili ovalni i prosječne veličine 40 x 50 µm. Ličinkama L2 stupnja je potrebno 4-8 dana

na 13-18°C i 20-27 dana na 5-7°C da izađu iz jajašaca nakon završetka embrionalnog razvoja. Prosječna duljina izvaljenog *Anisakis* spp. je 355 µm s ovojnicom i 230 µm bez ovojnice. Vrlo su aktivni u morskoj vodi i mogu preživjeti 3-4 tjedna na 13-18°C i 6-7 tjedana na 5-7°C (Nagasawa, 1990).

Dalje se stvaraju ličinke trećeg ili L3 stupnja kojima se hrane rakovi kao što su kopepodi u kojima rastu unutar hemocela. Ribe ili lignje progutaju rakove koje sadrže L3 ličinke koje su se probijale kroz stijenku probavnog trakta u utrobu i trbušnu šupljinu, nakon čega slijedi kapsuliranje ličinki. Kad zaraženu ribu pojede druga riba, inkapsulirane ličinke postaju slobodne čime se ponavlja ličinački ciklus (Levsen i Berland, 2012) (Slika 1).



Slika 1. Životni ciklus *Anisakis* spp. (Izvor: Teskeredžić i sur., 2013)

Ima tanko i duguljasto tijelo, mliječno bijele boje. Parazitira spiralno smotana ispod serozne ovojnice visceralnih organa. Duljina 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 (Grabda, 1976), koji im služi kao alat za probijanje ovojnice i zida crijeva tijekom njihove migracije. To je važno iz epidemiološke perspektive budući da ponovljeni prijenos ličinki između riba može rezultirati opsežnim

nakupljanjem. Neke veće karnivorne ribe u sebi mogu sadržavati na stotine ili tisuće inkapsuliranih ličinki. Konačni domaćini se zaraze jedući ribu ili lignje koje sadrže ove ličinke. Postoji mogućnost da manja količina ličinki migrira iz trbušne šupljine u meso, što rezultira nalazom parazita *Anisakis* spp. u filetima. Ovo posebice može stvarati problem kada je u pitanju riba namijenjena za konzumaciju (Levsen i Berland, 2012). Usni otvor ima tri široke, trokutaste kutikule ili usne (dvije ventro-lateralne i jedna dorzalna). Kutikula ima izbrazdan izgled, debljine 23 µm. Usni otvor se nastavlja u dugi, mišićno-epitelni jednjak oko kojeg se može uočiti ganglijski prsten. 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 analne žlijezde. Rektum završava anusom. Na samom kraju nametnika uočava se repić, značajan u identifikaciji parazita (Grabda, 1976).

Kod većine infestacija mesa ribe, ličinke borave u trbušnim zaliscima, ali mogu da prodru dublje u leđne mišiće. Zbog svoje male veličine i prozirnosti, većina ličinki prođe neotkriveno tijekom industrijske prerade, te su stoga i dalje prisutni kada konačni proizvod stigne na tržište (Levsen i Berland, 2012). Ljudi mogu djelovati kao slučajni domaćini koji se inficiraju konzumiranjem sirove, dimljene, marinirane slane ili nedovoljno kuhane ribe i lignji zaraženim *Anisakis* spp. (Mattiucci i sur, 2018).

1.3. Utjecaj na fiziologiju

Za razliku od makropredatora, mikropredatori obično ne uzrokuju izravnu smrtnost, nego uzrokuju stalni gubitak energije, što značajno utječe na fiziologiju i ponašanje domaćina. Koliko je intenzivna promjena ovisi o vrsti i količini parazita, te životnom stadiju domaćina. Ličinke i mlađ su podložnije učincima infekcije od odraslih jedinki zbog niskog metabolizma. Parazitska infekcija može utjecati na ponašanje i fizičke osobine, poput smanjenja vidne oštine, malformacije udova, te smanjenja brzine plivanja (Allan i sur., 2020).

Ne postoje dostupni podatci o izravnom fiziološkom učinku ovog parazita na organizam zaraženih jedinki, međutim postoje indikacije da teške infekcije kod nekih vrsta riba, neizravno ometaju rast i spolno sazrijevanje, i stoga negativno utječu na fekunditet domaćina. Različite vrste riba predstavljaju različita mikrostaništa, od kojih je svako karakterizirano specifičnim fiziološkim svojstvima koja se mogu izraziti kao različiti imunološki odgovori na infekciju (Levsen i Berland., 2012).

Neke pelagične i demerzalne vrste riba pokazuju porast prevalencije i brojnosti *Anisakis* spp. ličinki s dobi i veličinom. U istraživanju kojeg su proveli Levsen i Berland (2013) na atlantskoj skuši *Scomber scomber* Linnaeus, 1758 obrazac infekcije je bio drukčiji, prevalencija ličinki L3 bila je značajno veća u manjim jedinkama (< 500 g) u usporedbi s većim skušama (> 500 g) (Levsen i Berland., 2012).

Kao i kod mnogih drugih parazitskih infekcija, opseg u kojem *Anisakis* spp. ličinke mogu utjecati na domaćina ovisi o intenzitetu i mjestu infekcije. Što je intenzivnija infekcija, ličinke uzrokuju teže oštećenje jetre kod nekoliko vrsta riba. Na primjer, jako zaražena jetra bakalara i oslića može biti crvenkastosmeđa s krvarenjima ili čak poprimiti zelenu boju zbog uništavanja žučnih kanala u slučajevima kada ličinke prodru duboko u parenhim jetre (Levsen i Berland, 2012).

Dosadašnja istraživanja podupiru hipotezu da infekcija *A. simplex* nije povezana samo sa specifičnim karakteristikama poput prehrambenih navika, veličine i dobi, nego i imunološkim karakteristikama domaćina. Na primjer, kod nekih manjih zaraženih jedinki postoji kompromis u korištenju metaboličke energije, umjesto za rast i razmnožavanje, koristi se za suočavanje sa infekcijom. Potrebna da su daljnja istraživanja kako bi se razjasnio mogući utjecaj *Anisakis* spp. na rast i razmnožavanje zaraženih domaćina (Levsen i Berland, 2012).

1.4. Anisakijaza

Anisakijaza je česta u Europi, posebice u Nizozemskoj, Japanu i SAD-u. Ljudi se zaraze jedući ribu koja sadrži ličinke L3. Međutim, ljudi su slučajni domaćini, budući da prijenos parazita na ljude ne može rezultirati potpunim životnim ciklusom parazita. Prevalencija je dosegla više od 75% kod svježeg komercijalnog lososa u SAD-u i gotovo 100% u haringama iz Sjevernog mora. U područjima bez prisutnosti morskih sisavaca, prevalencija *Anisakisa* je vrlo niska. Također treba napomenuti da parazit nikada nije otkriven u velikom broju ispitanih lososa iz akvakulture. U EU-u uvjeti za kontrolu parazita propisani su Direktivom Vijeća br. 91/493/EEZ. Sva riba i riblji proizvodi moraju biti podvrgnuti vizualnom pregledu tijekom obrade u svrhu otkrivanja i uklanjanja vidljivih parazita. Propisi SAD-a propisuju da proces zamrzavanja za uništavanje parazita treba biti -20°C tijekom 7 dana ili -35°C tijekom 15 h (www.fao.org). Prvi znakovi alergijske reakcije obično se pojavljuju unutar 60-120 minuta nakon konzumacije zaražene ribe, ali može potrajati i do šest sati (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).

Najbolja prevencija i kontrola anisakijaze je konzumacija dobro kuhane ili dobro smrznute ribe. Brojni dobro poznati riblji proizvodi mogu biti nesigurni. To se odnosi na sve slabo konzervirane riblje proizvode kao što su hladno dimljena riba, marinirana riba, maatjes haringa, lagano slani kavijar, *Ceviche* i nekoliko drugih proizvoda. Kratko razdoblje zamrzavanja, bilo sirovog ili konačnog proizvoda, mora biti uključeno u preradu kao sredstvo za kontrolu parazita (www.fao.org).

U posljednjih 30 godina došlo je do značajnog porasta prevalencije anisakijaze u cijelom svijetu. Ovo povećanje je povezano s primjenom specifičnije dijagnostičke tehnike u humanoj medicini, posebice endoskopije, kao i s povećanjem konzumacije sirove ribe. Studija koju je provela Europska agencija za sigurnost hrane (EFSA), simptomi su potpuno nespecifični, što bolest čini podcijenjenom u odnosu na broj stvarnih slučajeva. Bolest može biti povezana s konzumacijom sirove ili nedovoljno kuhane ribe, kao i ribljih proizvoda koji nisu podvrgnuti toplinskoj obradi, kao što su carpaccio, soljeni proizvodi, dimljeni proizvodi i marinirani proizvodi. Ovaj parazit ugiba samo kada se kuha na temperaturama iznad 60°C i/ili zamrzne na -20°C (www.fao.org).

Postoje različiti oblici anisakijaze:

- *Akutni*: najčešći oblik, karakteriziran simptomima kao što su bolovi u epigastriju, mučnina, povraćanje, groznica, bol u trbuhu i proljev.
- *Kronični*: ličinke prodiru u gastrointestinalnu sluznicu, uzrokujući stvaranje apscesa i granuloma, s nespecifičnim simptomima, kao što su kronični proljev, melena, povremeni bolovi u trbuhu i groznica.
- *Ekstra-gastrointestinalni ili ektopični*: ličinke prodiru u gastrointestinalnu sluznicu i prolaze kroz različite organe; uzrokuju takozvani sindrom "larva migrans" i mogu se nalaziti unutar bezbrojnih tkiva, na takvim mjestima mogu izazvati reakciju stranog tijela, koja se može razviti u granulom ili apsces.
- *Alergijski*: Anisakis je jedini riblji parazit koji može izazvati alergijske reakcije (www.fao.org).

Od 1995. do 2002. prijavljeno je više od 150 slučajeva kliničke manifestacije alergije na *A. simplex* u Španjolskoj. Ovaj parazit je sada uključen u standardne setove alergena za

ispitivanje. Prvi ispitani pacijent imao je epizode anafilaksije nakon konzumacije oslića. U preko 50% slučajeva alergijskih reakcija ovim parazitom bila je potrebna hitna pomoć, a 5 od 64 pacijenata je bilo hospitalizirano zbog respiratornih poteškoća, teškog šoka i perzistentnog angioedema. Vrste ribe koje su bile konzumirane u ovim slučajevima su: oslić, incuni *E. encrasicholus* i bakalar *G. morhua*. Polovica pacijenata je konzumirala sirovu ribu, najmanje tri su konzumirali konzerviranu ribu, a ostali kuhanu ribu. Drugi najčešće prijavljeni simptomi kod alergije na *Anisakis* su simptomi u probavnom traktu (oko 70%) (Audicana i sur, 2002).

1.5. Analizirane vrste

1.5.1. Oslić

Europski oslić (Slika 2) se obično nalazi na dubini između 70 i 370 m, ali se može pojaviti i u širem rasponu dubina, od obalnih voda (30 m) do 1 000 m. Danju obitava blizu dna, a noću se kreće s dna (Cohen i sur, 1990), najčešće na 10-800 m dubine (Jardas, 1996). Nalazi se uz atlantsku obalu Europe i zapadnosjeverne Afrike, na sjeveru od Norveške i Islanda prema jugu do Mauritanije. Također se nalazi u Sredozemnom moru i duž južne obale Crnog mora (Cohen i sur, 1990).



Slika 2. Vanjski izgled oslića *Merluccius merluccius* (Izvor fotografije: Stela Karović)

Razdoblje mriještenja je vrlo dugo i varira s populacijama: prosinac-lipanj na Mediteranu, veljača-svibanj u Biskajskom zaljevu, travanj-srpanj kod Islanda i svibanj- kolovoz u Škotskoj. U Sredozemnom moru mrijest se događa između 100 i 300 m dubine, u Keltskom moru iznad 150 m. Mlađ do 3 godine obitava na muljevitom dnu, krećući se prema obali u dobi od 3 godine. Prva spolna zrelost dostiže se tijekom sedme godine za većinu ženki sa oko 57 cm, a tijekom pete godine za mužjake sa oko 40 cm duljine za populaciju Atlantika. Na Mediteranu mužjaci sazrijevaju na 26-27 cm, ženke na 36-40 cm. Ženke rastu brže od mužjaka. Sredozemne

populacije rastu sporije. Fekunditet je od 2 do 7 milijuna jaja po ženki. Odrasle jединke hrane se uglavnom ribom (inćuni, srdele) i lignjama, a mlađ rakovima. Maksimalna zabilježena duljina je 140 cm, a masa 15 kg, ali najčešći raspon duljine je od 30 do 60 cm (Cohen i sur, 1990).

1.5.2. Srdela

Srdela (Slika 3) je pelagična i neritička vrsta koja se nalazi na dubini od 10 do 100 m, najčešće od 25 do 100 m dubine (www.fishbase.com). Nalazi se uz obale sjeveroistočnog Atlantika, od Islanda i Sjevernog mora, prema jugu do Senegala, u Mediteranu, Jadranu, Mramornom i Crnom moru (www.fao.org). Česta je vrsta u Mediteranu, posebice u zapadnom dijelu Jadranskog mora, dok je u istočnom Jadranu rijetka. Mrijesti se na 20 do 25 m dubine u blizini obale, ali i do 100 km od obale (www.fishbase.com), od travnja u Engleskom kanalu, od lipnja do kolovoza u Sjevernom i Crnom moru, od rujna do svibnja uz europske obale Sredozemlja i od studenog do lipnja uz afričke obale Sredozemnog mora (www.fao.org). Uglavnom se hrani planktonskim rakovima. Maksimalna duljina je 27,5 cm, a uobičajena duljina je 20,0 cm. Maksimalna prijavljena dob je 15 godina. Mrijesti se u serijama, na otvorenom moru ili blizu obale, s fekunditetom od 50.000-60.000 jaja prosječnog promjera 1,5 mm. Prodaje se svježa, smrznuta ili konzervirana (www.fishbase.com).



Slika. Vanjski izgled srdele *Sardina pilchardus* (Izvor: www.researchgate.net)

1.5.3. Šarun

Šarun (Slika 4) je dugoživuća vrsta koja dostiže i do 40 godina starosti. Rast do treće godine života je brz u usporedbi sa rastom nakon toga. Imaju dugu sezonu mrijesta koja traje i do 8 mjeseci, ovisno o zemljopisnom području. Dostižu spolnu zrelost između 16 i 25 cm, najčešće sa oko 21 cm. Mužjaci dostižu spolnu zrelost sa nešto manjom duljinom od ženki. Procjenjuje se da je dob prve spolne zrelosti kod ženki od 2 do 4 godine (Abaunza, 2003).

Maksimalna duljina je 70,0 cm, a uobičajena duljina 22,0 cm. Maksimalna objavljena težina je 2,0 kg. Ženke imaju fekunditet od 140 000 pelagičnih jaja, iz kojih se izlegu 5 mm duge ličinke. Hrane se ribama, rakovima i glavonošcima. Nalaze se na području Sredozemnog mora i istočnog Atlantika od Norveške do Južne Afrike (www.fishbase.se).



Slika 4. Vanjski izgled šaruna *Trachurus trachurus* (Izvor fotografije: Stela Karović)

1.5.4. Bukva

Bukva (Slika 5) je semipelagična do pridnena vrsta, pronalazi se na dubinama do 200 m, većinom između 50 i 150 m dubine. Nastanjuje Sredozemno i Crno more, istočnu i zapadnu obalu Atlantskog oceana, te je široko rasprostranjena u Jadranskom moru. Spolno sazrijeva u drugoj godini života sa duljinom od 13 cm. Sezona mriješta traje od ožujka do lipnja. Pretežno se hrani zooplanktonom (Jardas, 1996). Dostiže maksimalnu duljinu od 40,0 cm, a uobičajena duljina je 20,0 cm. Maksimalna objavljena težina je 455,00 g, a maksimalna prijavljena dob je 11 godina. Ova vrsta je protoginični hermafrodit (www.fishbase.se).



Slika 5. Vanjski izgled bukve *Boops boops* (Izvor fotografije: Stela Karović)

1.5.5. Trlja

Trlja od blata je (Slika 6) pridnena vrsta koja nastanjuje dubine od 10 do 500 m, najčešće iznad muljevutih i pjeskovitih dna. U Jadranskom moru je rasprostranjena duljinom cijele obale (Jardas, 1996). Nalazi se na području istočnog Atlantika, od Velike Britanije, povremeno Skandinavije, do Dakara, Senegala, Sredozemnog i Crnog mora. Dostiže maksimalnu duljinu od 38,2 cm, a uobičajena duljina je 20 cm (www.fishbase.se). Sezona mrijesta započinje od kraja zime i završava početkom ljeta. Pretežno se hrani polihetima, školjkašima i rakovima (Jardas, 1996)



Slika 6. Vanjski izgled trlje od blata *Mullus barbatus* (Izvor fotografije: Stela Karović)

1.6. Dosadašnja istraživanja

Mnoga znanstvena istraživanja su se bavila pojavom *Anisakis* spp. u morskim koštunjačama, posebice u osliću, šarunu, srdelama, haringama, bakalaru, incunima i mnogim drugima. Ove vrste *Anisakis* spp. nastanjuje u obliku L-3 ličinki gdje je u stanju mirovanja dok čeka na konačnog domaćina. Dostupni su mnogobrojni podatci, posebice za oslića, o količini i prevalenciji *Anisakis* spp. U osliću iz Jadranskog mora, Mediterana i Atlantskog oceana je postalo uobičajeno pronalaziti ovog parazita. Prema Valero i suradnicima (2006), u istraživanju provedeno na obalama zapadne afrike atlantskog oceana i Mediterana od Španjolske, otkrivena je prevalencija parazita *Anisakis* od 87,97% i 41,27% u osliću.

Za srdelu ima mnogo istraživanja i rezultati variraju. U istraživanju Serracca i suradnika (2014), pregledano je 750 jedinki srdela na prevalenciju *Anisakis* parazita, u kojima nije nađen niti jedan uzorak, što sugerira da je mogućnost zaraze anisakijazom od ove vrste vrlo niska. Sprovedena su molekularna i epidemiološka istraživanja srdela iz 5 ribolovnih područja španjolskog Mediterana i atlantske obale kako bi se utvrdila prisutnost *Anisakis* spp. ličinki. Najveća prevalencija ovih ličinki bila je 28,3% i identificirana su tri genotipa *Anisakisa*: *A. simplex*, *A. pegreffii* i hibridni genotip između ove dvije vrste. *A. pegreffii* je bila najraširenija vrsta u 71% ličinki. Samo tri ličinke *Anisakisa* bile su smještene u muskulaturi (Molina-Fernández i sur, 2015).

Za treću proučavanu vrstu u ovom radu, šaruna, ima obilje znanstvenih radova o infekciji *Anisakis* spp. koji su dostupni za usporedbu sa ovim istraživanjem. Parametri infekcije proučavani su kod šaruna uzetih iz dva područja sjevernog Maroka, što je pokazalo prosječnu prisutnost od 54,9%. Pokazalo se da je *A. pegreffii* dominantna vrsta, a *A. simplex* nije bio otkriven. U istraživanju Tantanasi i suradnika (2012), otkrivena je prisutnost od 98,8% *Anisakis* spp. u šarunima iz sjevernog Egejskog mora. Broj parazita bio je značajno povezan s duljinom domaćina, ali nije bio povezan sa spolom. Mjesec uzorkovanja utjecao je na veličinu riba, a time i na broj parazita. Duljina ličinki nije bila povezana s duljinom domaćina.

Za vrstu bukva nema mnogo znanstvenih istraživanja. Ichalal i sur. (2015) su proučavali i ispitivali na parazite 455 bukvi i 953 šaruna s istočne obale Alžira. Dvije različite vrste nematoda su identificirane: *A. simplex* i *Hysterothylacium aduncum* Rudolphi, 1802. Ove dvije parazitske vrste prvi put su prijavljene u bukvi i šarunu s istočne obale Alžira.

Nalaz ovog parazita u trlji je dovoljno istražen. Prema Serracca i sur. (2013), uzorkovano je i analizirano 67 jedinki trlje iz sjevernog Ligurskog mora u kojima je utvrđena prisutnost parazita *Anisakis* u 17 jedinki, što govori da je prisutnost 25,4%.

1.7. Ciljevi istraživanja

Cilj istraživanja ovog rada je analiza i pregled na prisutnost parazita *Anisakis* spp. u pet tržišno dostupnih vrsta na dubrovačkoj ribarnici. Vrste koje su korištene u ovom istraživanju su oslić, srdela, šarun, bukva i trlja od blata.

2. MATERIJALI I METODE

2.1. Obrada uzoraka

Svježe jedinke za ovo istraživanje nabavljene su na ribarnici u Dubrovniku u periodu od ožujka do svibnja. Za istraživanje uziman je nasumični uzorak uzimajući u obzir koje vrste su taj dan bile dostupne na ribarnici i u kojoj količini. Jedinke su obrađivane u biotehničkom laboratoriju Sveučilišta u Dubrovniku. Uzorcima je izmjerena ukupna duljina (Lt) ihtimetrom s točnošću od 0,01 mm, te ukupna masa tijela (W) sa tehničkom vagom s točnošću od 0,1 g. Spol jedinki određivan je temeljom vanjskog izgleda gonada, a masa gonada (Wg) analitičkom vagom s točnošću od 0,001 g.

2.2. Indeks kondicije

Kondicija označava fizičko stanje ribe kao posljedicu duljinsko - masenog odnosa i izražava se koeficijentom kondicije. Analizirajući promjene ovog indeksa moguće je pratiti određena stanja ribe uvjetovana čimbenicima okoliša, dostupnošću hrane, parazitima, ali je moguće odrediti i vrijeme mrijesta. Indeks kondicije izračunat je uz pomoć kubičnog ili Fultonova koeficijenta (Ricker, 1975):

$$IK=100 W Lt^{-3}$$

Gdje su: IK - vrijednost indeksa kondicije, W - masa ribe, Lt – ukupna duljina ribe.

2.3. Gonadosomatski indeks

Gonadosomatski indeks je parametar koji opisuje stanje razvoja gonada pojedinog spola kod određene vrste, a računa se prema formuli:

$$GSI = Wg / W * 100$$

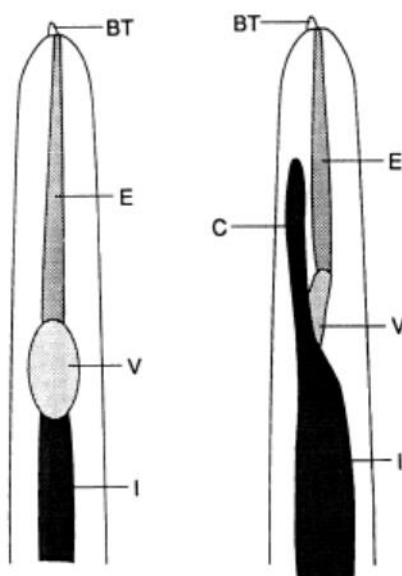
GSI – gonadosomatski indeks, Wg – masa gonada, W – masa cijele ribe

2.4. Nalaz parazita

Nakon što su prikupljeni biometrijski podatci jedinki slijedi pretraga na parazite. Metoda koja je korištena u ovom radu za nalaz parazita je vizualna metoda koja se pokazala efikasnom za detekciju parazita *Anisakis* spp.. Vizualna metoda se primjenjuje tako što se otvori trbušna šupljina jedinke i temeljito se pregledaju unutarnji organi i okolna mišićna i vezivna tkiva na prisutnost parazita, posebice L3 ličinki koje su vidljive okom. Nakon temeljitog pregleda svih

organa trbušne šupljine, posebice jetre, gonada i crijeva, te vezivnog tkiva koje ih okružuje. Pregledani su škržni lukovi na prisutnost parazita, a prvi škržni luk je odstranjen i temeljito pregledan pod lupom. Pronađeni paraziti pohranjeni su u otopini formalina i transportirani do Veterinarskog fakulteta Univerziteta u Sarajevu, Bosna i Hercegovina, na determinaciju roda.

Za razlikovanje L3 ličinki vrsta iz roda *Anisakis* od drugih vrsta nematoda rodova *Pseudoterranova*, *Contraecaecum*, *Phocanema* i *Hysterotelacium* koji su pripadnici porodice Anisakidae, a koji su morfološki slični; ličinke iz roda *Anisakis* za razliku od drugih rodova imaju jednostavni probavni sistem, jednjak-ventriculus-crijeva (Slika 7).



Slika 7. Shematski prikaz građe prednjeg dijela *Anisakis* spp, odnosno jednjak-ventriculus-crijeva, su dokaz nalaza *Anisakis* spp. kao što je na slici u boji. Lijevo: *A. simplex*, Desno: *Pseudoterranova* spp. BT- zubčić, E- jednjak, V- ventrikulus, C- cekum, I- crijevo (Izvor: Sakanari i Mckerrow, 1989)

2.5. Statistička obrada podataka

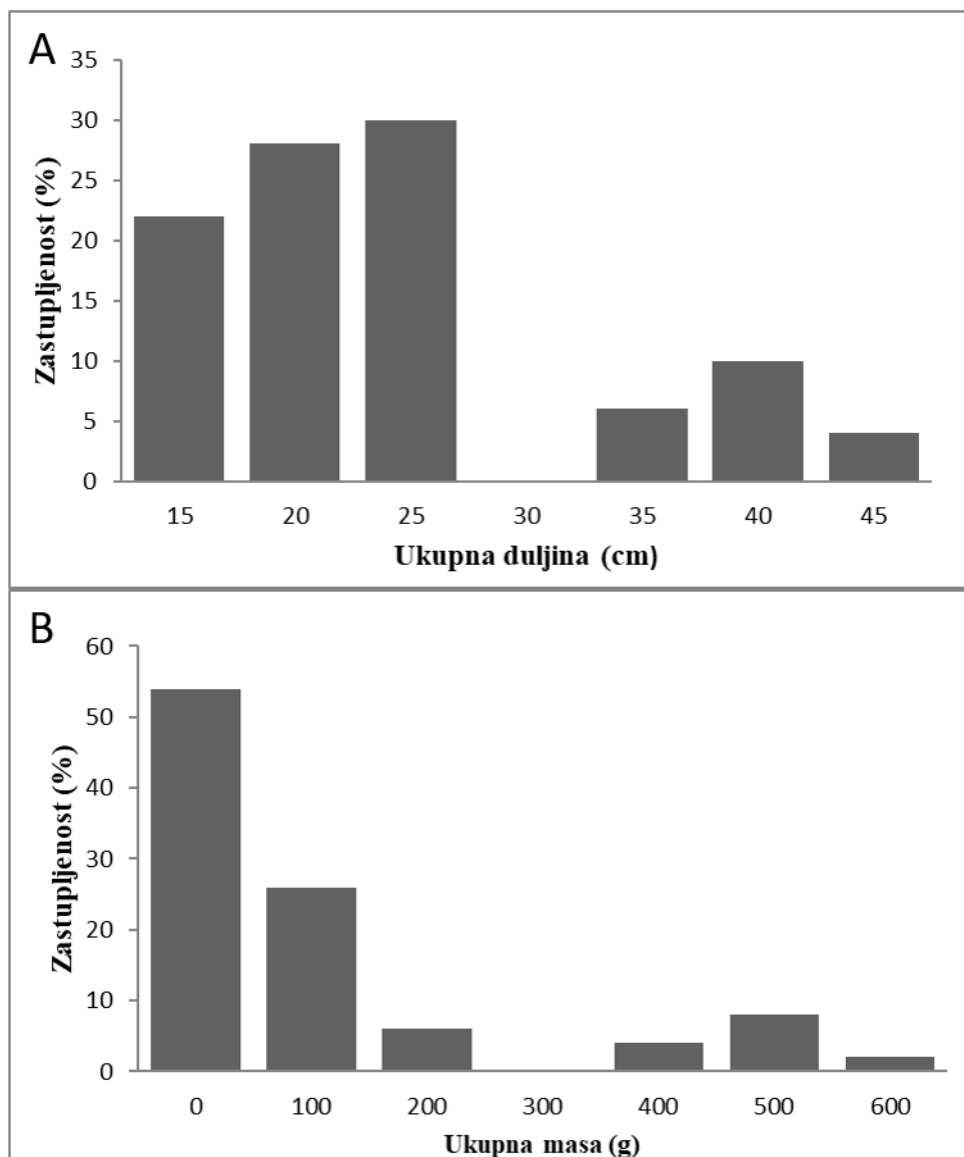
Svi podatci pohranjivali su se u baze podataka izrađivane u programu Microsoft Excel 2010. Isti program služio je za deskriptivne statističke analize koje su uključivale izračune srednjih vrijednosti, standardne devijacije, minimalnih i maksimalnih vrijednosti. Za izračunavanje ostalih statističkih analiza upotrebljavani su program Minitad V.17 i Statistica v.7 (StatSoftLtd). Srednje vrijednosti duljina i masa tijela ženki i mužjaka međusobno su uspoređivane *t*-testom. Omjer spolova izračunavao se uz pomoć Hi-kvadrat testa (χ^2).

3. REZULTATI

3.1. Analiza sastava populacija

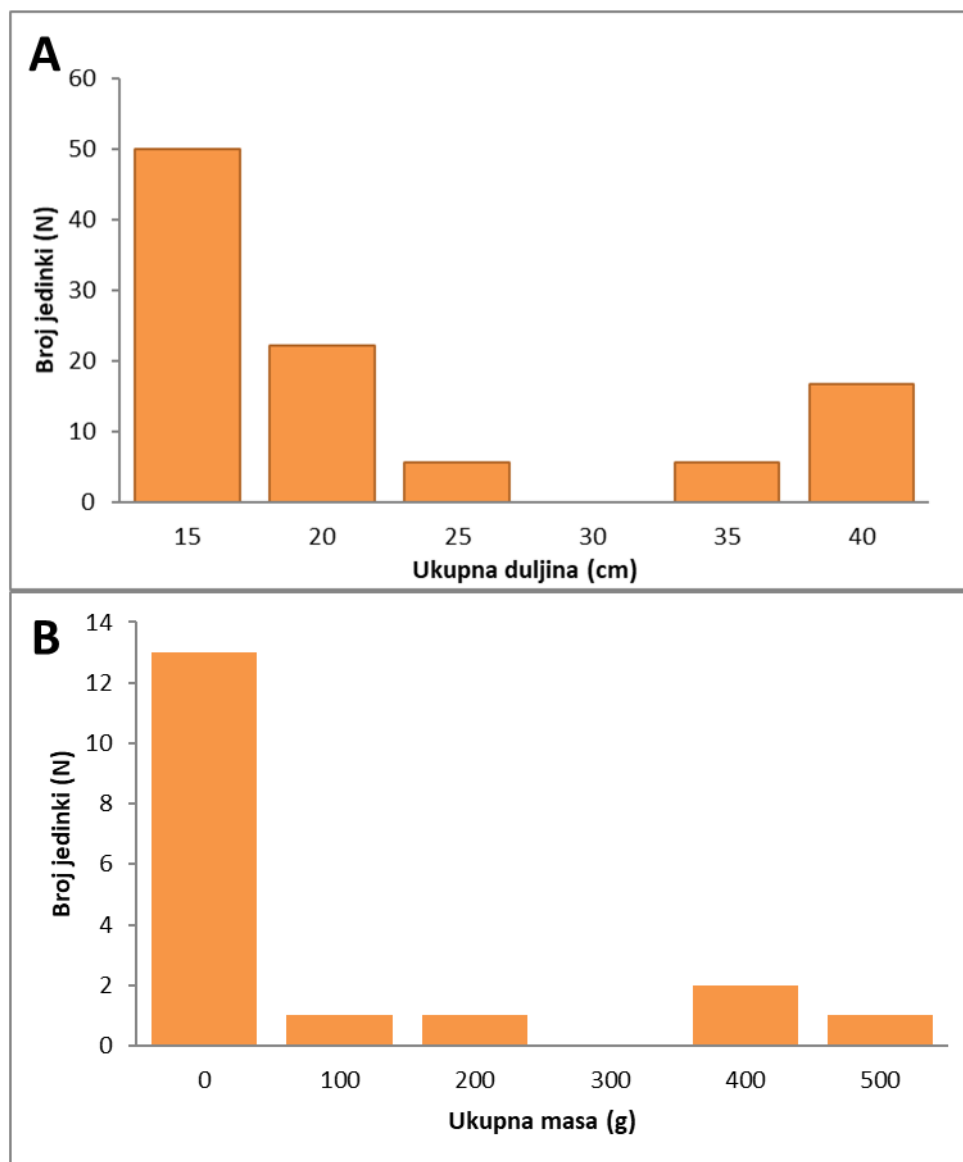
3.1.1. Analiza sastava populacije oslića

Tijekom istraživanja ukupno je pregledano i analizirano 50 jedinki oslića. U ukupnom uzorku bilo je 32 (64%) mužjaka i 18 (36%) ženki. Njihov omjer iznosio je 1:0,56 i statistički se razlikovao ($\chi^2=3,92$; $P=0,047$) od očekivanog omjera 1:1. Ukupna duljina tijela analiziranih jedinki bila je u rasponu od 16,9 do 45,9 cm s prosječnom vrijednosti od $26,83 \pm 8,50$ cm (Slika 8A). Raspon mase bio je od 29,57 do 640,9 g s prosjekom od $157,02 \pm 164,84$ g (Slika 8B).



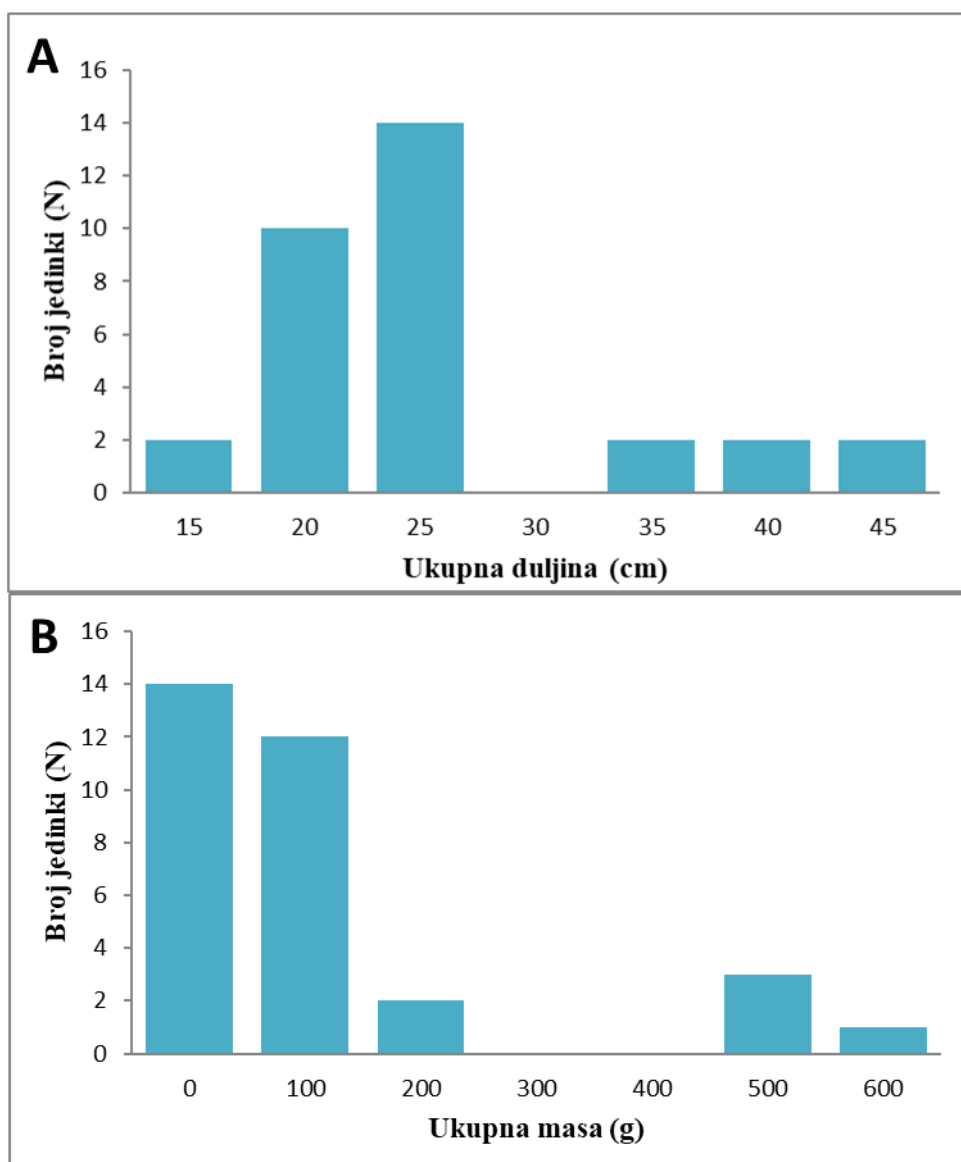
Slika 8. Zastupljenost ukupnih duljina tijela (A) i masa (B) analiziranih jedinki (N=50) oslića *Merluccius merluccius*

Ukupna duljina ženki oslića kretala se u rasponu od 17,2 do 44,9 cm s prosječnom duljinom od $25,09 \pm 9,31$ cm (Slika 9A). Ukupna masa tijela ženki bila je u rasponu od 30,79 do 567,06 g s prosjekom od $136,19 \pm 161,91$ g (Slika 9B).



Slika 9. Ukupna duljina tijela (A) i ukupna masa (B) analiziranih ženki (N=18) oslića *Merluccius merluccius*

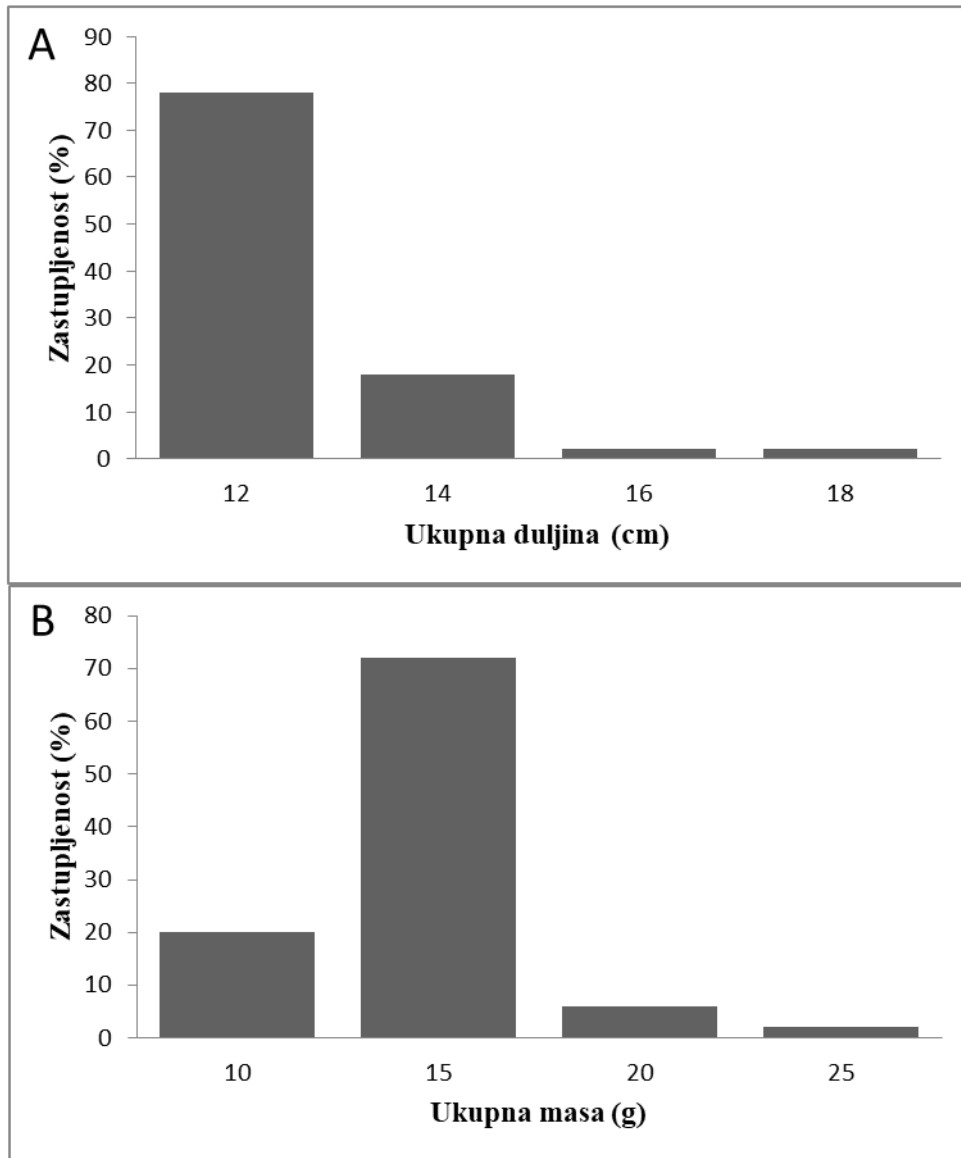
Ukupna duljina mužjaka oslića kretala se u rasponu od 16,9 do 45,9 cm s prosječnom duljinom od $27,81 \pm 7,99$ cm (Slika 10A). Raspon ukupne mase mužjaka bio je od 29,57 do 640,9 g s prosječnom masom od $168,73 \pm 167,87$ g (Slika 10B).



Slika 10. Ukupna duljina tijela (A) i ukupna masa (B) analiziranih mužjaka (N=32) oslića *Merluccius merluccius*

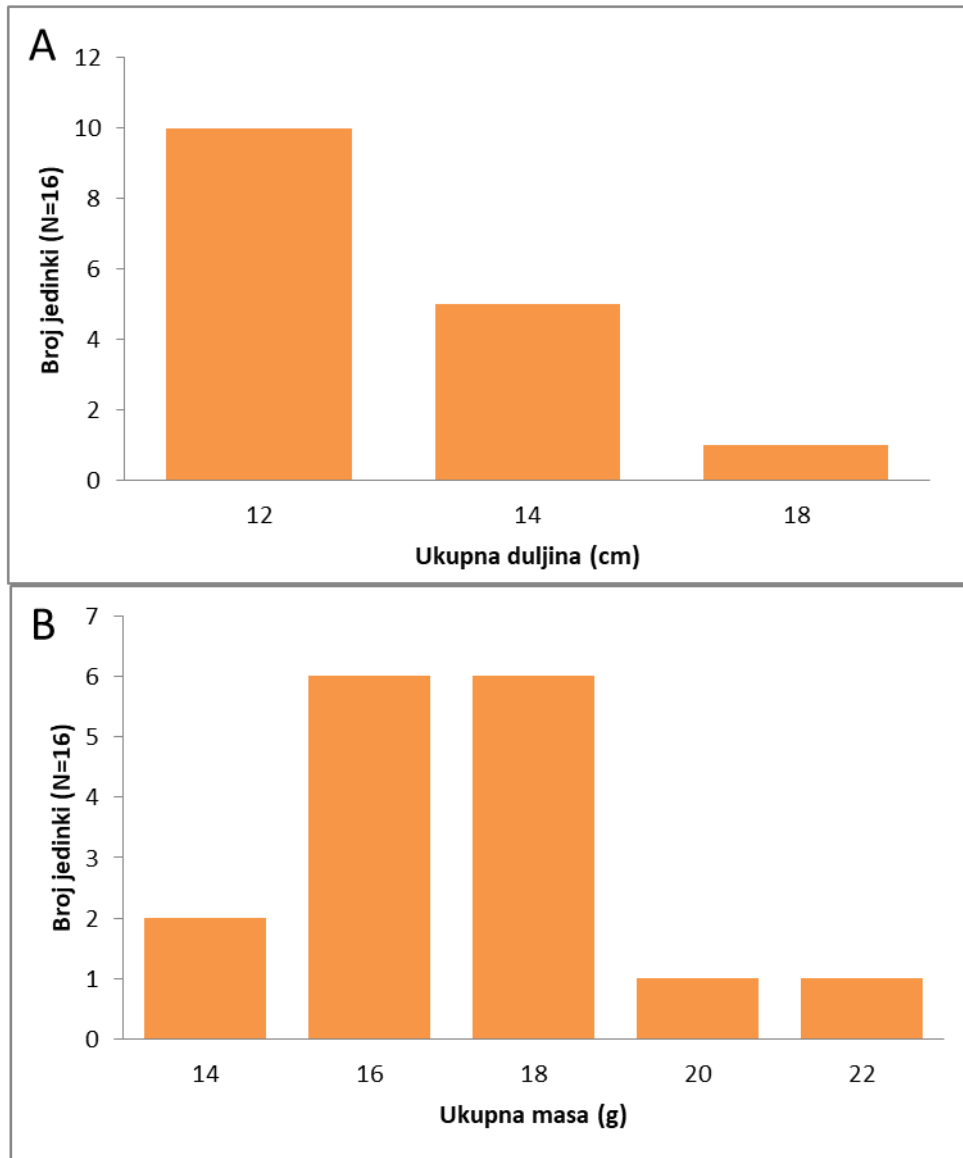
3.1.2. Analiza sastava populacije srdele

Tijekom istraživanja pregledano i analizirano 50 jedinki srdela. U ukupnom uzorku bilo je 34 (68%) mužjaka i 16 (32%) ženki. Njihov omjer iznosio je 1:0,47 i statistički se razlikovao ($\chi^2=6,48$; $P=0,010$) od očekivanog omjera 1:1. Ukupna duljina tijela analiziranih jedinki bila je u rasponu od 12,3 do 19,9 cm s prosječnom vrijednosti od $13,65 \pm 1,10$ cm (Slika 11A). Raspon mase bio je od 14,14 do 27,37 g s prosjekom od $16,92 \pm 2,35$ g (Slika 11B).



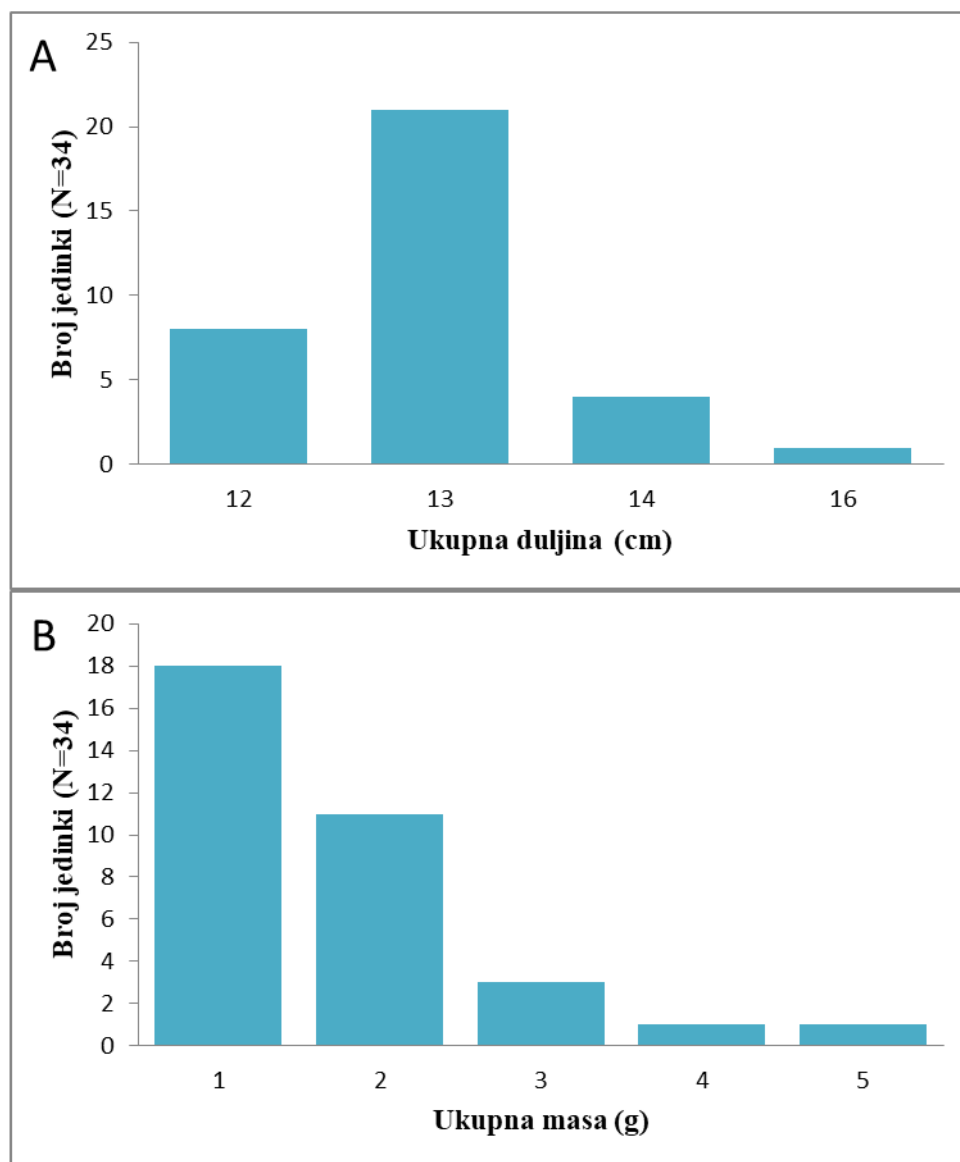
Slika 11. Zastupljenost ukupnih duljina tijela (A) i masa (B) analiziranih jedinki srdele *Sardina pilchardus* (N=50)

Ukupna duljina ženki srdela kretala se u rasponu od 13,1 do 19,9 cm s prosječnom duljinom od $14,21 \pm 1,57$ cm (Slika 12A). Ukupna masa tijela ženki bila je u rasponu od 14,92 do 22,13 g s prosječnom vrijednosti od $17,91 \pm 1,84$ g (Slika 12B).



Slika 12. Ukupna duljina tijela (A) i ukupna masa (B) analiziranih ženki srdele *Sardina pilchardus* (N=16)

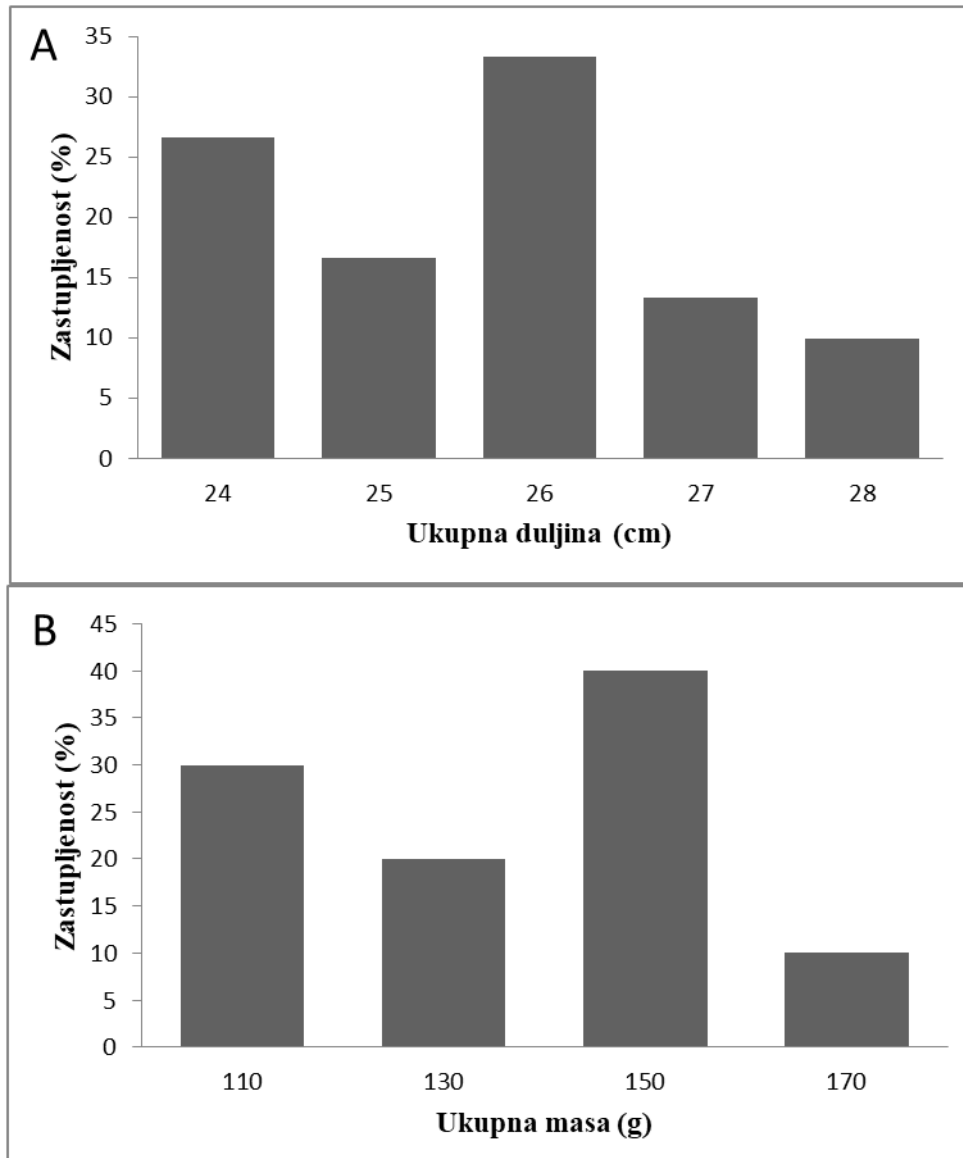
Ukupna duljina mužjaka srdela kretala se u rasponu od 12,3 do 16,1 cm s prosječnom vrijednosti od $13,39 \pm 0,69$ cm (Slika 13A). Ukupna masa tijela mužjaka bila je u rasponu od 14,14 do 27,37 g s prosječnom vrijednosti od $16,47 \pm 2,44$ g (Slika 13B).



Slika 13. Ukupna duljina tijela (A) i ukupna masa (B) analiziranih mužjaka srdele *Sardina pilchardus* (N=34)

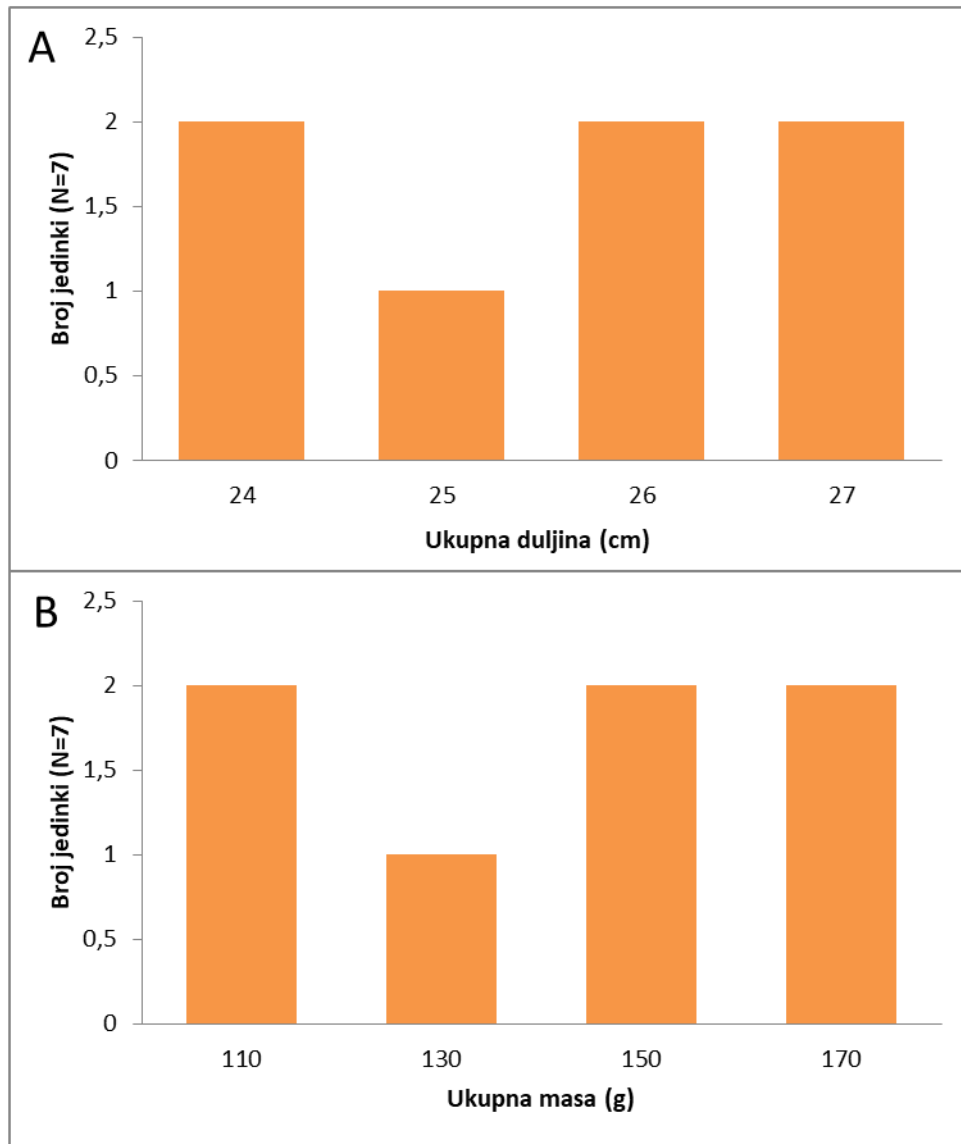
3.1.3. Analiza sastava populacije šaruna

Tijekom istraživanja pregledano je i analizirano 30 jedinki šaruna. U ukupnom uzorku bilo je 23 (76,67%) mužjaka i 7 (23,33%) ženki. Njihov omjer iznosio je 1:0,30 i statistički se razlikovao ($\chi^2=8,534$; $P=0,003$) od očekivanog omjera 1:1. Ukupna duljina tijela analiziranih jedinki bila je u rasponu od 24,1 do 28,5 cm s prosječnom duljinom od $26,07 \pm 1,28$ cm (Slika 14A). Raspon mase bio je od 114,03 do 189,42 g s prosječnom vrijednosti od $146,83 \pm 22,45$ g (Slika 14B).



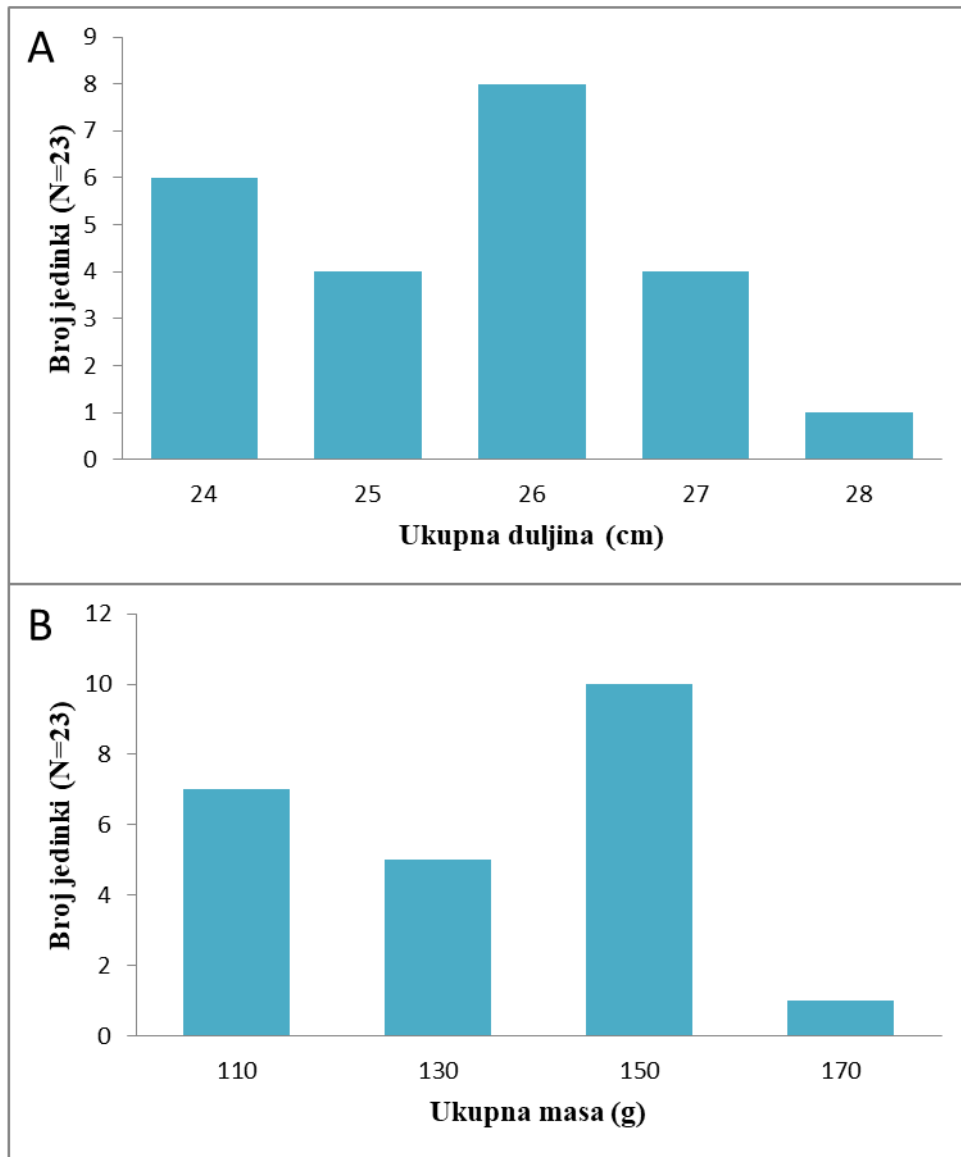
Slika 14. Zastupljenost ukupnih duljina tijela (A) i masa (B) analiziranih jedinki šaruna *Trachurus trachurus* (N=30)

Ukupna duljina ženki šaruna kretala se od 24,4 do 28,4 cm s prosječnom vrijednosti od $26,34 \pm 1,59$ cm (Slika 15A). Ukupna masa tijela ženki kretala se od 116,54 do 189,42 g s prosječnom vrijednosti od $152,52 \pm 29,33$ g (Slika 15B).



Slika 15. Ukupna duljina tijela (A) i ukupna masa (B) analiziranih ženki šaruna *Trachurus trachurus* (N=7)

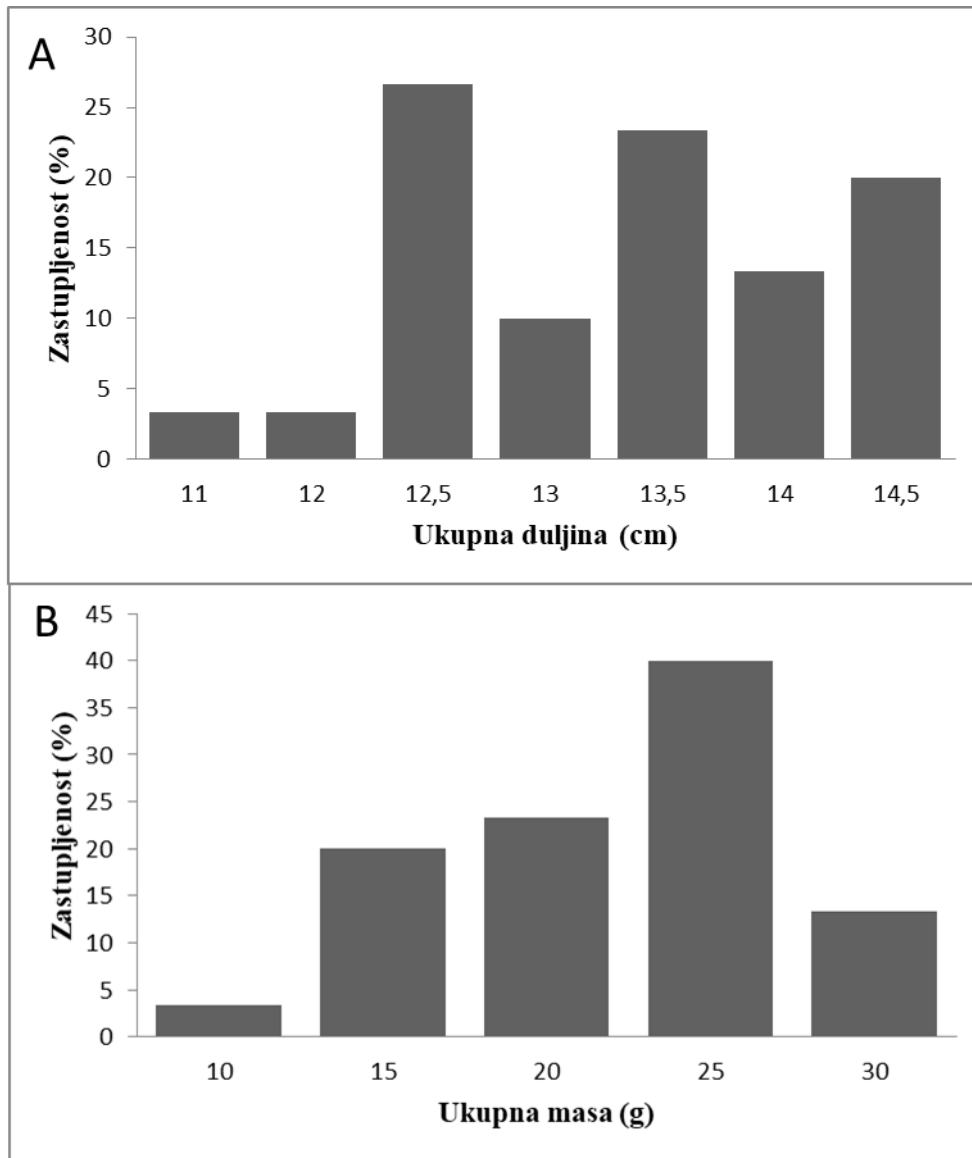
Ukupna duljina mužjaka šaruna kretala se od 24,1 do 28,5 cm s prosječnom vrijednosti od $25,99 \pm 1,19$ cm (Slika 16A). Ukupna masa tijela mužjaka šaruna kretala se od 114,03 do 186,98 g s prosječnom vrijednosti od $145,10 \pm 20,40$ g (Slika 16B).



Slika 16. Ukupna duljina tijela (A) i ukupna masa (B) analiziranih mužjaka šaruna *Trachurus trachurus* (N=23)

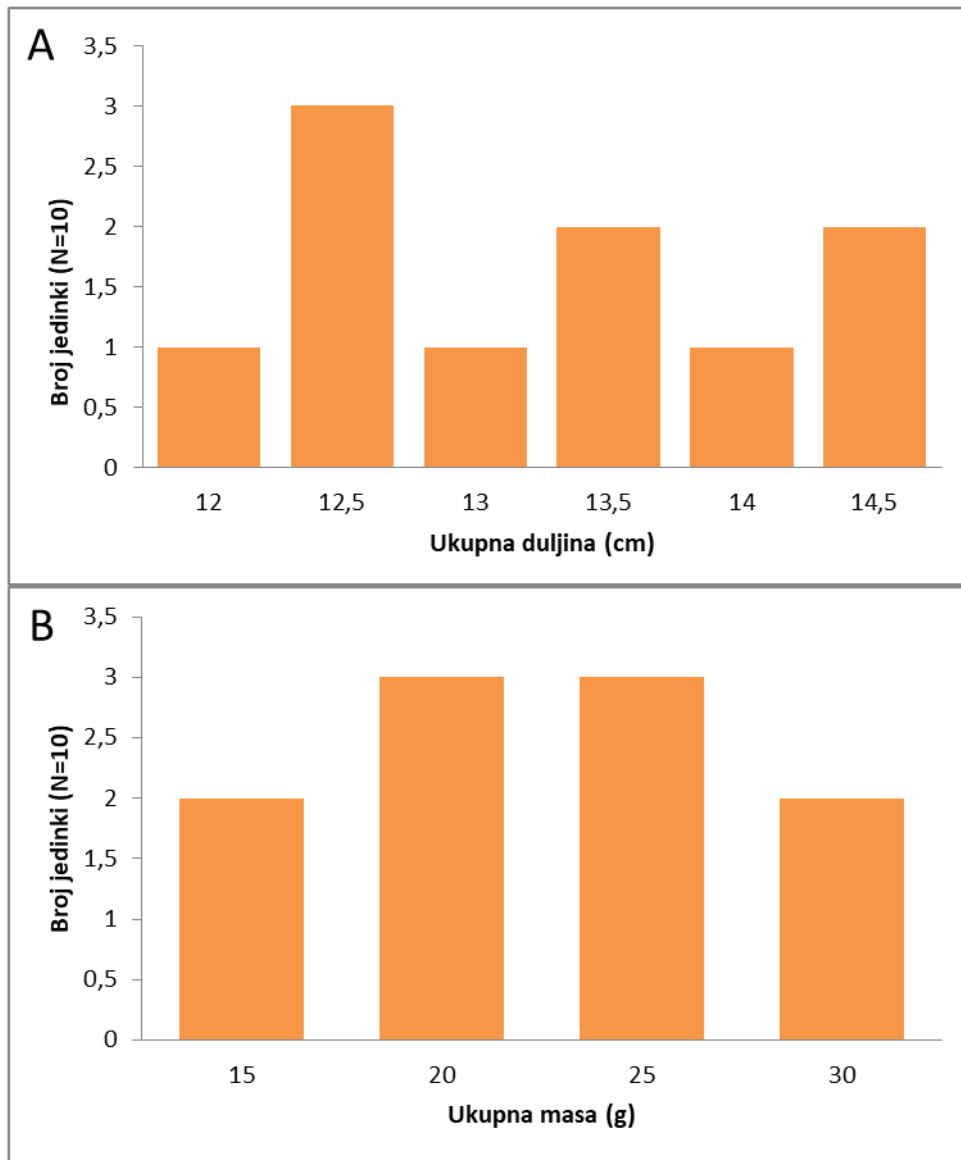
3.1.4. Analiza sastava populacije bukve

Tijekom istraživanja pregledano je i analizirano 30 jedinki bukve. U ukupnom uzorku bilo je 20 (66,67%) mužjaka i 10 (33,33%) ženki. Njihov omjer iznosio je 1:0,50 i statistički se nije značajno razlikovao ($\chi^2=3,34$; $P=0,0067$) od očekivanog 1:1. Ukupna duljina tijela analiziranih jedinki bila je u rasponu od 11,4 do 14,9 cm s prosječnom vrijednosti od $13,63 \pm 0,90$ cm (Slika 17A). Raspon mase kretao se od 13,89 do 33,8 g s prosječnom vrijednosti od $24,67 \pm 5,10$ g (Slika 17B).



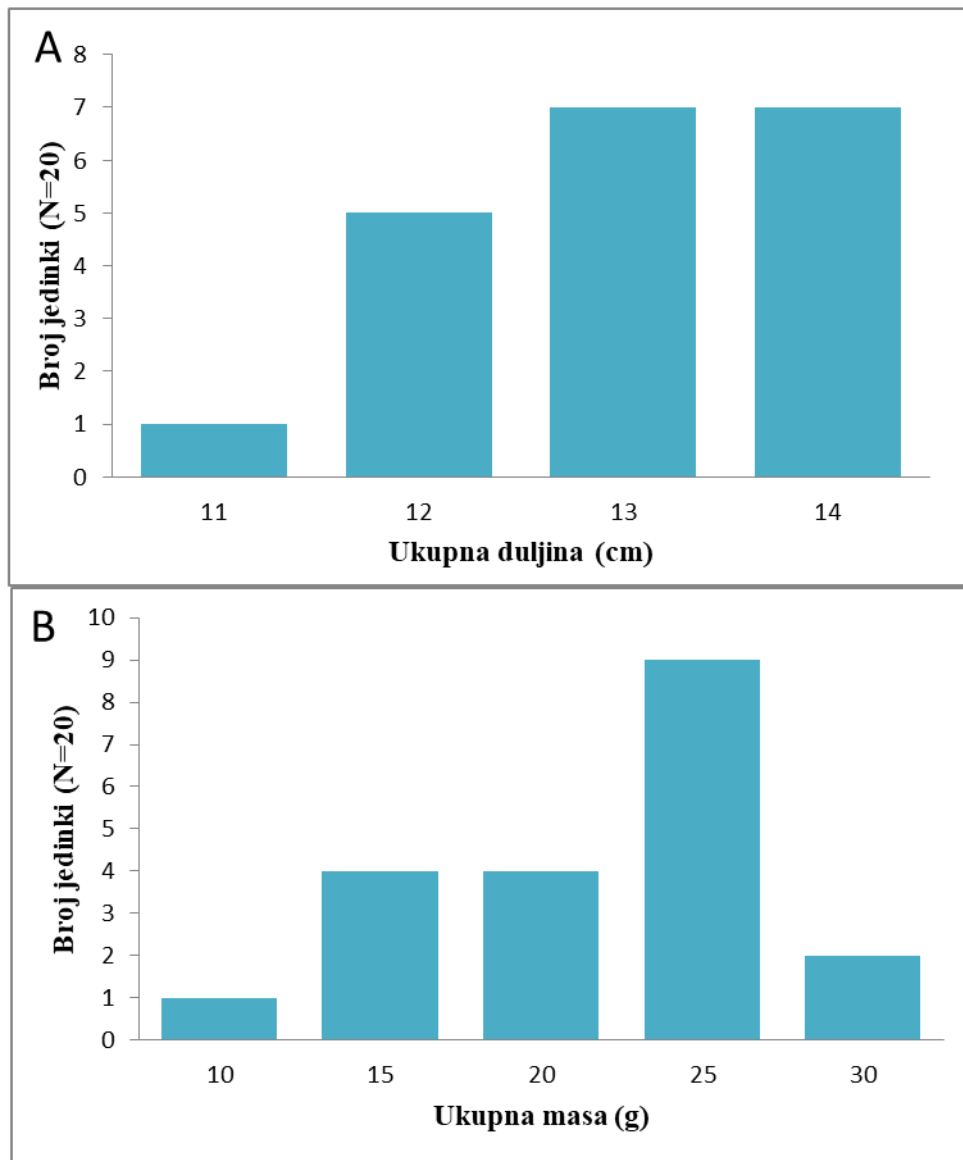
Slika 17. Zastupljenost ukupnih duljina tijela (A) i masa (B) analiziranih jedinki bukve *Boops boops* (N=30)

Ukupna duljina ženki bukve kretala se od 12,5 do 14,9 cm s prosječnom vrijednosti od $13,56 \pm 0,10$ cm (Slika 18A). Ukupna masa tijela ženki bila je u rasponu od 17,14 do 32,46 g s prosječnom vrijednosti od $24,69 \pm 5,27$ g (Slika 18B).



Slika 18. Ukupna duljina tijela (A) i ukupna masa (B) analiziranih ženki bukve *Boops boops* (N=10)

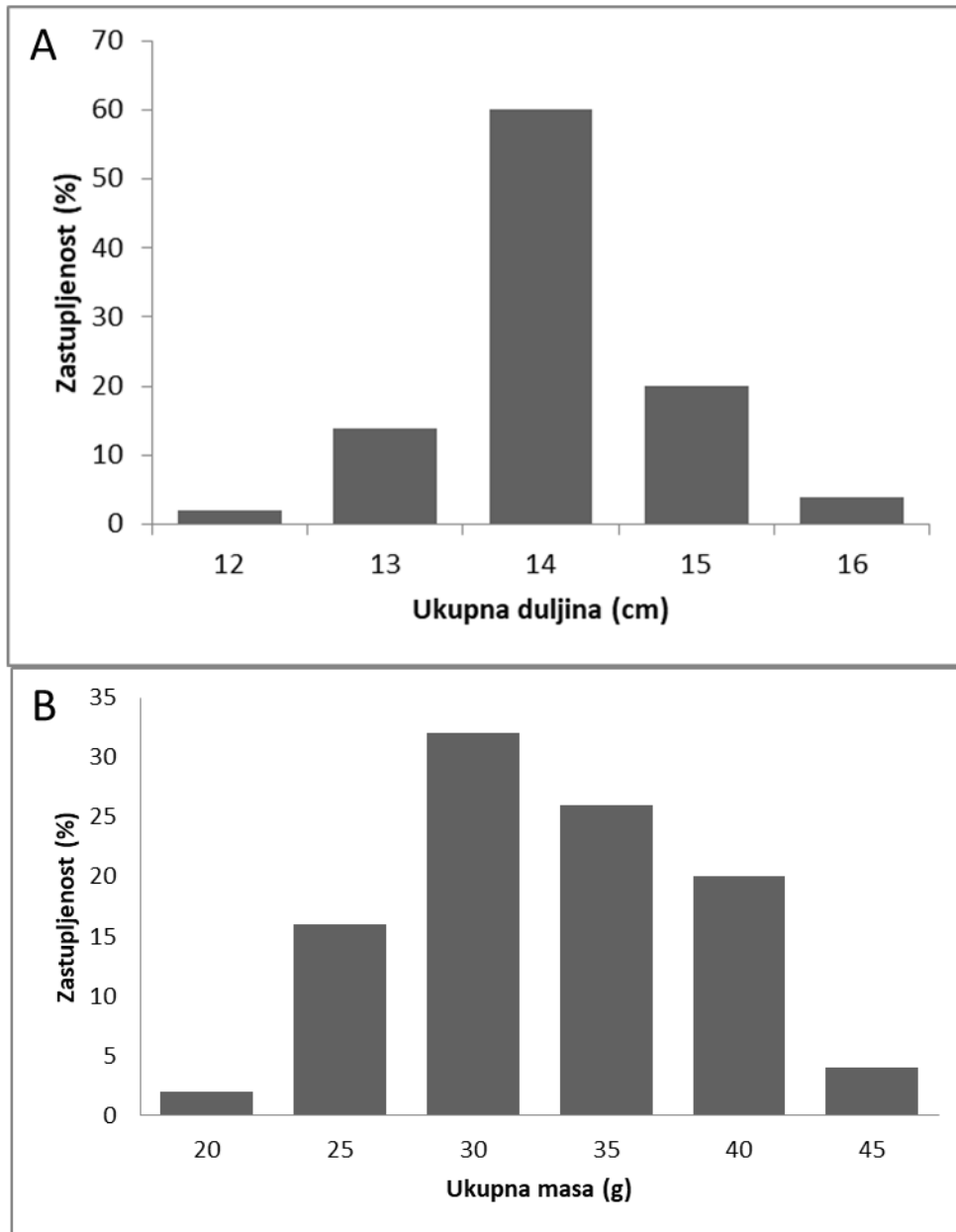
Ukupna duljina mužjaka bukve kretala se u rasponu od 11,4 do 14,9 cm s prosječnom vrijednosti od $13,66 \pm 0,92$ cm (Slika 19A). Ukupna masa tijela mužjaka kretala se u rasponu od 13,89 do 33,8 g s prosječnom vrijednosti od $24,66 \pm 5,15$ g (Slika 19B).



Slika 19. Ukupna duljina tijela (A) i ukupna masa (B) analiziranih mužjaka bukve *Boops boops* (N=20)

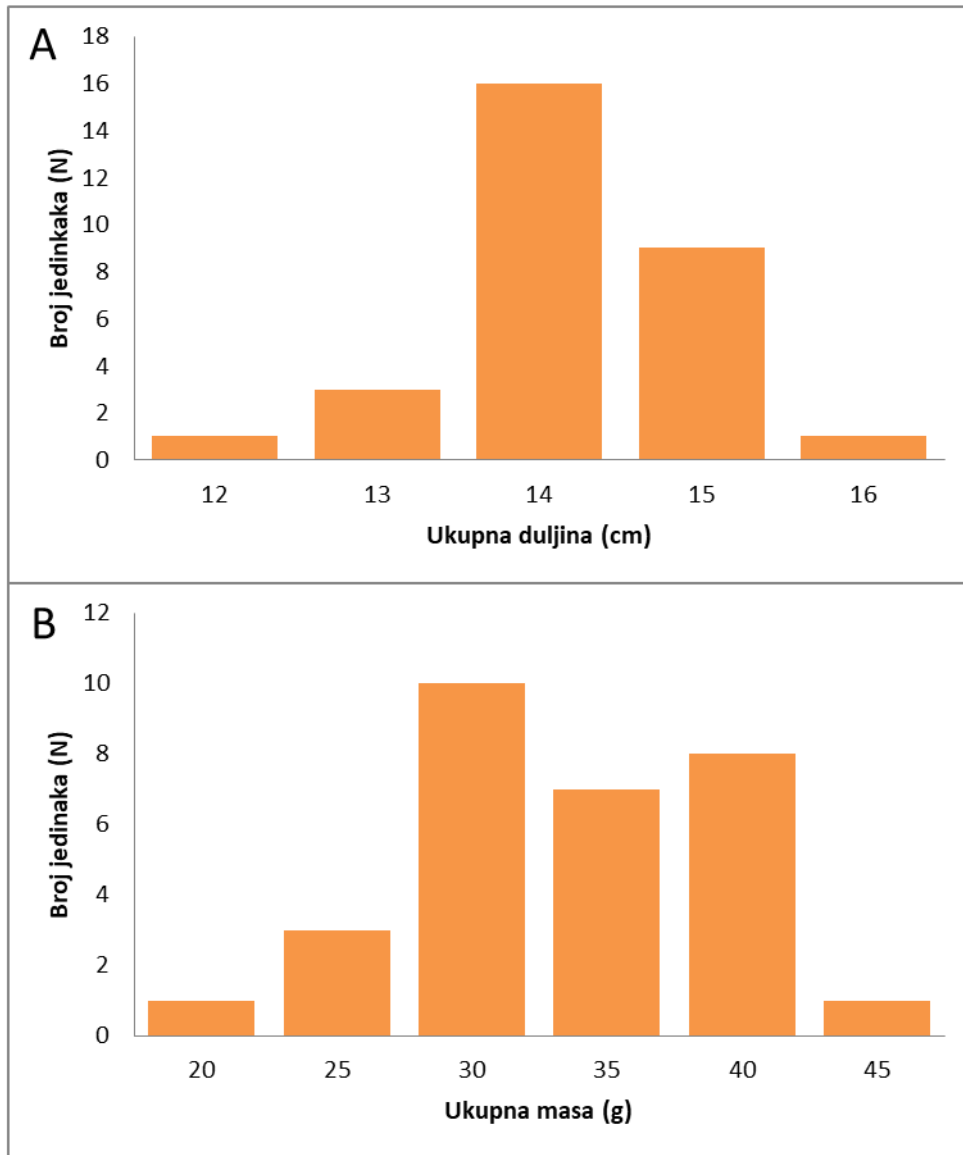
3.1.5. Analiza sastava populacije trlje

Tijekom istraživanja pregledano je i analizirano 50 jedinki trlja. U ukupnom uzorku bilo je 20 (40%) mužjaka i 30 (60%) ženki. Njihov omjer iznosio je 0,66:1 i statistički se nije značajno razlikovao ($\chi^2=2,000$; $P=0,157$) od očekivanog 1:1. Ukupna duljina tijela analiziranih jedinki bila je u rasponu od 12,6 do 16,3 cm s prosječnom vrijednosti od $14,66 \pm 0,79$ cm (Slika 20A). Raspon mase kretao se od 22,55 do 49,63 g s prosječnom vrijednosti od $35,78 \pm 5,88$ g (Slika 20B).



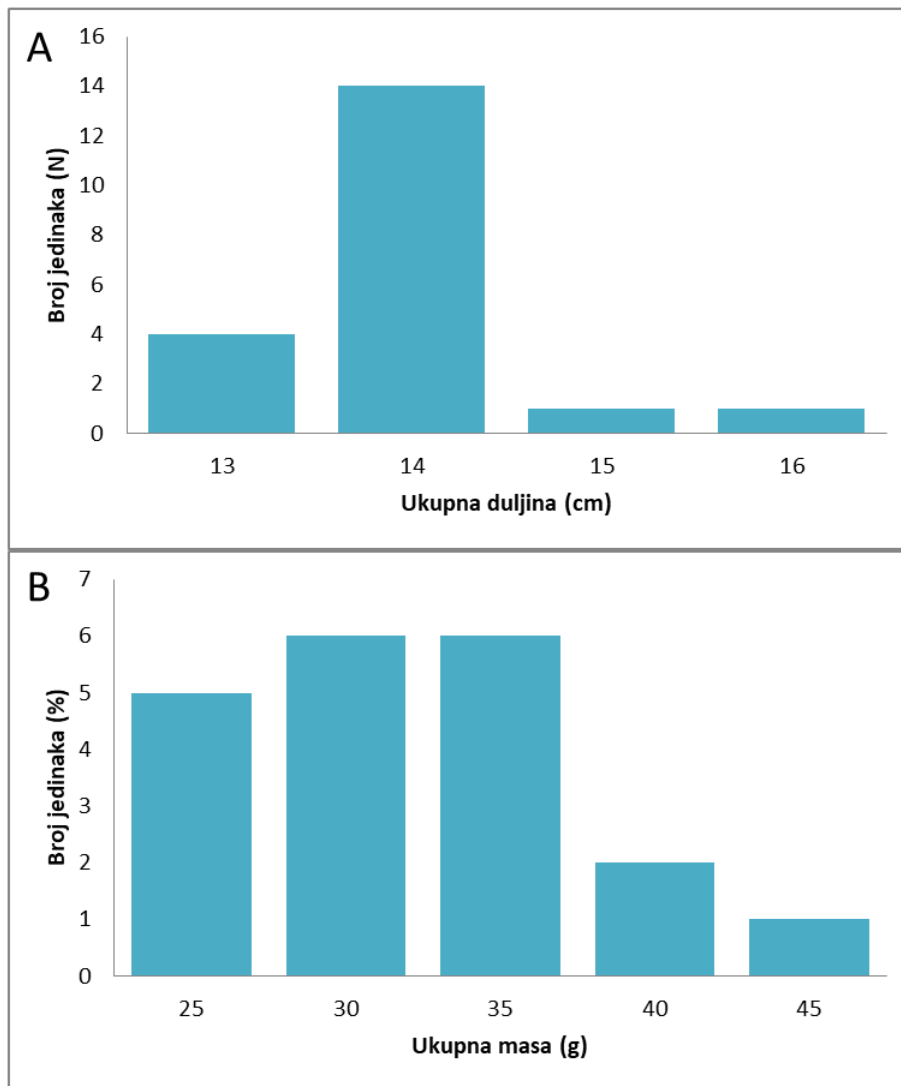
Slika 20. Zastupljenost ukupnih duljina tijela (A) i masa (B) analiziranih jedinki trlje *Mullus barbatus* (N=50)

Ukupna duljina ženki trlja kretala se u rasponu od 12,6 do 16,3 cm s prosječnom vrijednosti od $14,78 \pm 0,87$ cm (Slika 21A). Ukupna masa tijela ženki kretala se u rasponu od 22,55 do 49,63 g s prosječnom vrijednosti od $36,78 \pm 6,26$ g (Slika 21B).



Slika 21. Ukupna duljina tijela (A) i ukupna masa (B) analiziranih ženki trlje *Mullus barbatus* (N=30)

Ukupna duljina tijela mužjaka trlja kretala se u rasponu od 13,3 do 16,1 cm s prosječnom vrijednosti od $14,49 \pm 0,65$ cm (Slika 22A). Ukupna masa tijela mužjaka kretala se u rasponu od 27,71 do 47,2 g s prosječnom vrijednosti od $34,29 \pm 5,05$ g (Slika 22B).



Slika 22. Ukupna duljina tijela (A) i ukupna masa (B) analiziranih mužjaka trlje *Mullus barbatus* (N=20)

3.2. Indeks kondicije

Indeks kondicije za oslića, srdelu, šaruna, bukvu i trlju određen je na svim analiziranim jedinkama tijekom istraživanja s obzirom na spol.

3.2.1. Indeks kondicije oslića

Indeks kondicije za oslića određen je na ukupno 50 jedinki. Vrijednosti indeksa kondicije su bile u rasponu od 0,425 do 1,560, a njegova srednja vrijednost je iznosila 0,639 za ukupni uzorak. Indeks kondicije kod ženki bio je u rasponu od 0,450 do 1,094 sa srednjom vrijednosti od 0,627, a kod mužjaka u rasponu od 0,425 do 1,560 sa srednjom vrijednosti od 0,646 (Tablica 1).

Tablica 1. Indeks kondicije (IK) oslića *Merluccius merluccius*

Duljinski razredi	Ukupno		Mužjaci		Ženke	
	\bar{X} W (g)	IK	\bar{X} W (g)	IK	\bar{X} W (g)	IK
15	44,15	0,729	52,435	1,086	42,309	0,649
20	67,925	0,613	66,74	0,608	70,888	0,625
25	126,951	0,637	125,400	0,635	148,67	0,670
30	0	0	0	0	0	0
35	268,05	0,459	274,71	0,463	254,73	0,450
40	500,96	0,635	560,56	0,676	461,227	0,608
45	600,6	0,629	600,6	0,629	162,971	0
Srednja vrijednost	229,805	0,529	3	0,585	162,971	0,500

3.2.2. Indeks kondicije srdele

Indeks kondicije za srdelu određen je za ukupno 50 jedinki. Vrijednosti indeksa kondicije su bile u rasponu od 0,189 do 0,889, a njegova srednja vrijednost je iznosila 0,674 za ukupni uzorak. Indeks kondicije kod ženki bio je u rasponu od 0,189 do 0,763 sa srednjom vrijednosti od 0,654, a kod mužjaka u rasponu od 0,621 do 0,889 sa srednjom vrijednosti od 0,683 (Tablica 2).

Tablica 2. Indeks kondicije (IK) srdele *Sardina pilchardus*

Duljinski razredi	Ukupno		Mužjaci		Ženke	
	\bar{X} W (g)	IK	\bar{X} W (g)	IK	\bar{X} W (g)	IK
12	16,271	0,692	15,787	0,690	17,672	0,699
14	18,843	0,649	18,663	0,641	14,24	0,656
16	27,37	0,656	27,37	0,656	0	0
18	14,92	0,189	0	0	19,9	0,189
Srednja vrijednost	19,352	0,547	15,455	0,497	12,953	0,386

3.2.3. Indeks kondicije šaruna

Indeks kondicije za šaruna određen je za ukupno 30 jedinki. Vrijednosti indeksa kondicije su bile u rasponu od 0,755 do 0,893, a njegova srednja vrijednost je iznosila 0,822 za ukupni uzorak. Indeks kondicije kod ženki bio je u rasponu od 0,755 do 0,878 sa srednjom vrijednosti od 0,826, a kod mužjaka u rasponu od 0,766 do 0,893 sa srednjom vrijednosti od 0,821 (Tablica 3).

Tablica 3. Indeks kondicije (IK) šaruna *Trachurus trachurus*

Duljinski razredi	Ukupno		Mužjaci		Ženke	
	\bar{X} W (g)	IK	\bar{X} W (g)	IK	\bar{X} W (g)	IK
24	121,346	0,821	119,779	0,814	126,05	0,878
25	131,69	0,813	133,668	0,828	123,78	0,755
26	154,849	0,834	154,4	0,831	156,645	0,847
27	165,456	0,811	165,458	0,811	0	0
28	188,49	0,820	186,98	0,808	189,245	0,826
Srednja vrijednost	152,367	0,820	152,057	0,818	119,144	119,144

3.2.4. Indeks kondicije bukve

Indeks kondicije za bukvu određen je za ukupno 30 jedinki. Vrijednosti indeksa kondicije su bile u rasponu od 0,878 do 0,120, a njegova srednja vrijednost je iznosila 0,962 za ukupni uzorak. Indeks kondicije kod ženki bio je u rasponu od 0,878 do 1,120 sa srednjom vrijednosti od 0,980, a kod mužjaka u rasponu od 0,882 do 1,068 sa srednjom vrijednosti od 0,954 (Tablica 4).

Tablica 4. Indeks kondicije (IK) bukve *Boops boops*

Duljinski razredi	Ukupno		Mužjaci		Ženke	
	\bar{X} W (g)	IK	\bar{X} W (g)	IK	\bar{X} W (g)	IK
11	13,89	0,938	13,89	0,938	0	0
12	19,701	0,954	19,462	0,937	20	0,976
13	24,912	0,978	24,814	0,966	25,14	1,005
14	29,986	0,957	29,764	0,957	30,503	0,957
Srednje	22,122	0,957	21,983	0,949	18,911	0,735
vrijednosti						

3.2.5. Indeks kondicije trlje

Indeks kondicije za trlje određen je za ukupno 50 jedinki. Vrijednosti indeksa kondicije su bile u rasponu od 0,892 do 1,327, a njegova srednja vrijednost je iznosila 1,127 za ukupni uzorak. Indeks kondicije kod ženki bio je u rasponu od 1,028 do 1,327 sa srednjom vrijednosti od 1,130, a kod mužjaka u rasponu od 0,892 do 1,251 sa srednjom vrijednosti od 1,123 (Tablica 5).

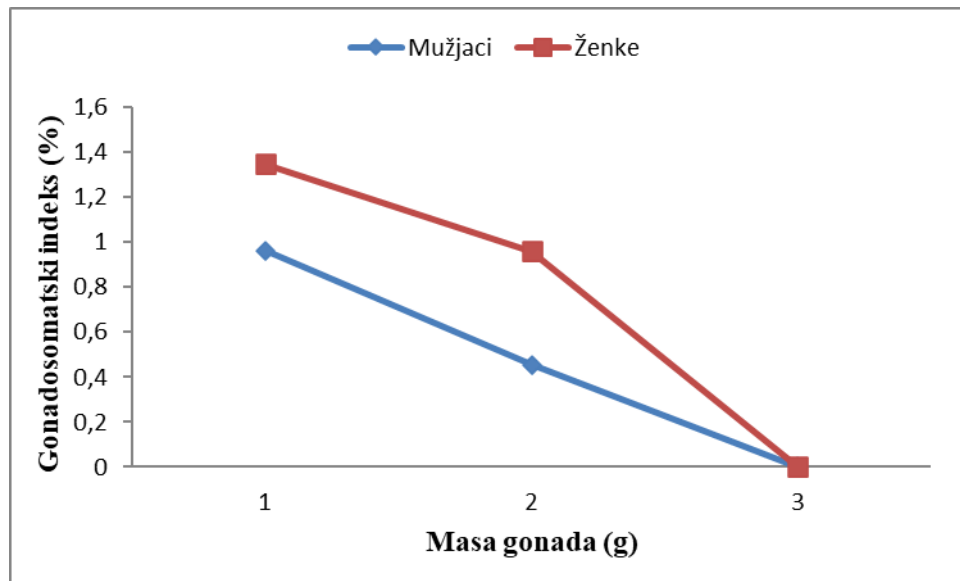
Tablica 5. Indeks kondicije (IK) trlje *Mullus barbatus*

Duljinski razredi	Ukupno		Mužjaci		Ženke	
	\bar{X} W (g)	IK	\bar{X} W (g)	IK	\bar{X} W (g)	IK
12	22,55	1,127	0	0	22,55	1,127
13	28,83	1,160	29,468	1,166	27,98	1,153
14	34,656	1,126	34,134	1,109	35,112	1,133
15	42,824	1,118	42,86	1,151	42,82	1,115
16	48,415	1,138	47,2	1,131	49,63	1,146
Srednja	35,455	1,133	30,732	0,911	35,619	1,135
vrijednost						

3.3. Gonadosomatski indeks

3.3.1. Gonadosomatski indeks oslića

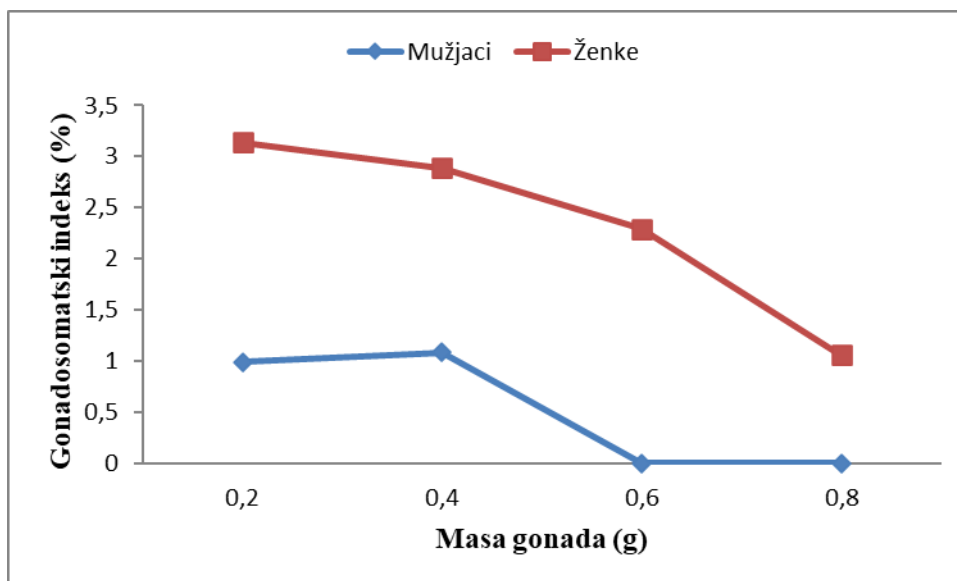
Gonadosomatski indeks oslića određen je za ukupno 50 jedinki. Vrijednosti gonadosomatskog indeksa bile su u rasponu od 0,240 do 1,565 sa srednjom vrijednosti od 0,683 za ukupni uzorak, od 0,240 do 1,004 sa srednjom vrijednosti od 0,562 za ženke i od 0,261 do 1,565 sa srednjom vrijednosti od 0,751 za mužjake (Slika 23).



Slika 23. Gonadosomatski indeks oslića *Merluccius merluccius* (N=50)

3.3.2. Gonadosomatski indeks srdele

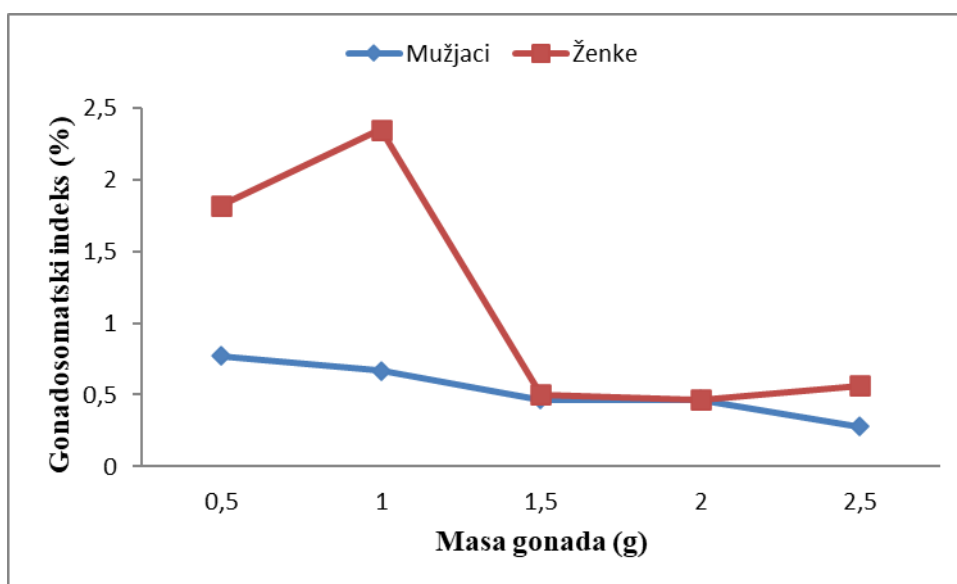
Gonadosomatski indeks srdele određen je za ukupno 50 jedinki. Vrijednosti su bile u rasponu od 0,612 do 4,075 sa srednjom vrijednosti od 1,359 za ukupni uzorak, od 0,725 do 4,075 sa srednjom vrijednosti od 1,895 za ženke i od 0,612 do 3,252 sa srednjom vrijednosti od 1,160 za mužjake (Slika 24).



Slika 24. Gonadosomatski indeks srdele *Sardina pilchardus* (N=50)

3.3.3. Gonadosomatski indeks šaruna

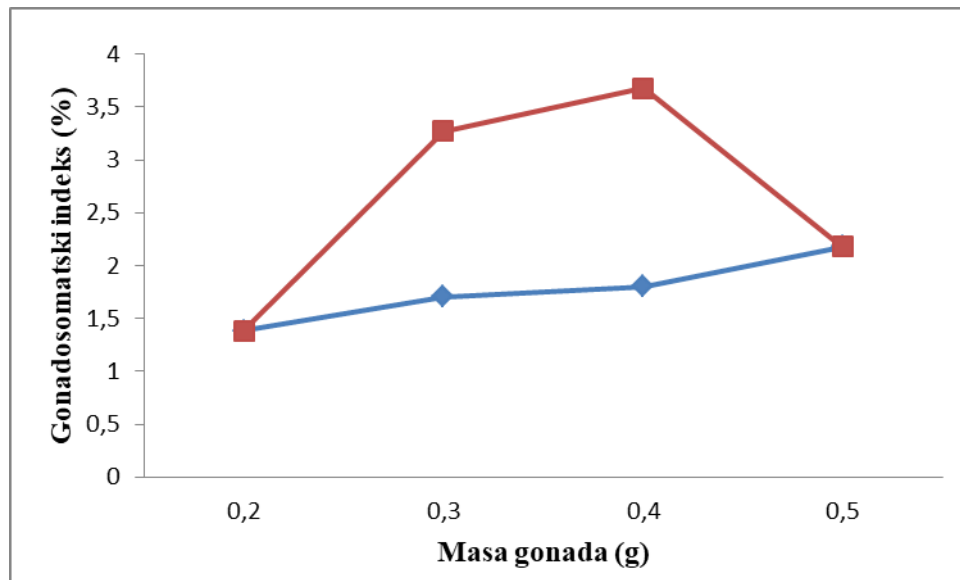
Gonadosomatski indeks šaruna određen je za ukupno 30 jedinki. Vrijednosti su se kretale u rasponu od 0,026 do 2,253 sa srednjom vrijednosti od 0,757 za ukupni uzorak, od 0,037 do 2,253 sa srednjom vrijednosti od 0,951 za ženke i od 0,026 do 2,220 sa srednjom vrijednosti od 0,698 za mužjake (Slika 25).



Slika 25. Gonadosomatski indeks šaruna *Trachurus trachurus* (N=30)

3.3.4. Gonadosomatski indeks bukve

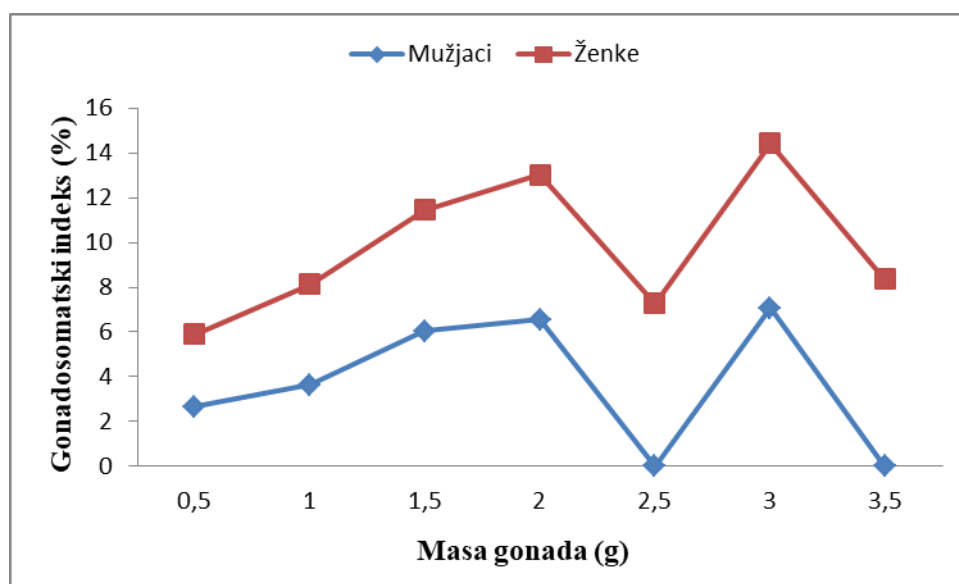
Gonadosomatski indeks bukve određen je za ukupno 30 jedinki. Vrijednosti su bile u rasponu od 1,138 do 2,537 sa srednjom vrijednosti od 1,771 za ukupni uzorak, od 1,138 do 2,537 sa srednjom vrijednosti od 1,691 za ženke i od 1,190 do 2,455 sa srednjom vrijednosti od 1,811 za mužjake (Slika 26).



Slika 26. Gonadosomatski indeks bukve Boops boops (N=30)

3.3.5. Gonadosomatski indeks trlje

Gonadosomatski indeks trlje određen je za ukupno 50 jedinki. Vrijednosti su bile u rasponu od 2,151 do 9,056 sa srednjom vrijednosti od 5,619 za ukupni uzorak, od 2,551 do 9,056 sa srednjom vrijednosti od 6,134 za ženke i od 2,151 do 7,145 sa srednjom vrijednosti od 4,846 za mužjake (Slika 27).

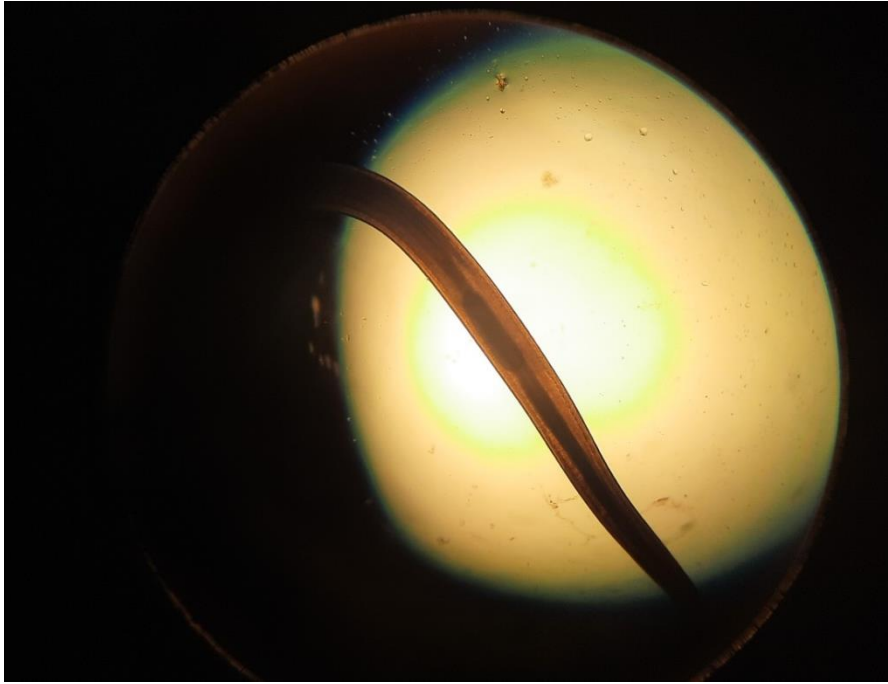
Slika 27. Gonadosomatski indeks trlje *Mullus barbatus* (N=50)

3.4. Nalaz parazita

U obrađenim jedinkama bukve, srdele i trlje nisu pronađeni paraziti. U obrađenim jedinkama oslića, u 37 od 50 pronađena je prisutnost parazita *Anisakis* sp., od tog u 14 od 18 kod ženki i u 23 od 32 kod mužjaka. Sve obrađene jedinke šarun imale su prisutnost parazita *Anisakis* spp. (Tablica 6). Pronađeni paraziti su determinirani do roda *Anisakis* (Slika 28).

Tablica 6. Prisutnost parazita u obrađenim vrstama

Vrsta	Broj jedinki	Br. zaraženih jedinki	Br. zaraženih jedinki ženki	Br. zaraženih jedinki mužjaka	Prevalencija
Oslić <i>Merluccius merluccius</i>	50	37	14	23	74%
Srdela <i>Sardina pilchardus</i>	50	0	0	0	0%
Šarun <i>Trachurus trachurus</i>	30	30	7	23	100%
Bukva <i>Boops boops</i>	30	0	0	0	0%
Trlja <i>Mullus barbatus</i>	50	0	0	0	0%



Slika 28. Prednji dio L-3 ličinki po kome se determiniralo do roda *Anisakis* (Izvor fotografije: Adnan Jažić)

3.4.1. Nalaz parazita u osliću

U osliću su paraziti uočeni najčešće na gonadama (Slika 29) i na vezinom tkivu oko gonada. Nakupine parazita su nađene u svim dijelovima trbušne šupljine, a kod nekih i u usnoj šupljini.



Slika 29. *Anisakis* spp. na gonadama oslića *Merluccius merluccius* (Izvor fotografije: Stela Karović)

Analizirane jedinke sadržavale su parazite pojedinačno i odvojeno od nakupine, a kod nekih su se nalazili u većim ili manjim nakupinama (Slika 30) koje su imale masu od 0,046 do 0,242 g po nakupini



Slika 30. Nakupina parazita *Anisakis* spp. nađeni u osliću *Merluccius merluccius* (Izvor fotografije: Stela Karović)

Kod nekih je cijela trbušna šupljina bila invadirana parazitima u manjim (Slika 31) ili većim količinama (Slika 32). Prisutnost *Anisakis* spp. u ukupnom uzorku iznosila je 74%, od tog 77,78% u ženki i 71,88% u mužjaka.



Slika 31. Nalaz *Anisakis* spp. u trbušnoj šupljini oslića *Merluccius merluccius* (Izvor fotografije: Stela Karović)



Slika 32. *Anisakis* spp. u trbušnoj šupljini oslića *Merluccius merluccius* (Izvor fotografije: Stela Karović)

Od 18 pregledanih jedinki ženki oslića, u 14 je ustanovljena prisutnost parazita *Anisakis* spp. Prevalencija parazita u ženki oslića je 77,78%. Četiri jedinke u kojima nisu pronađeni paraziti imale su duljine od 17,2 do 19,9 cm. Ukupna duljina svih jedinki ženki kretala se od 17,2 do 44,9 cm s prosječnom duljinom od 25,09 cm.

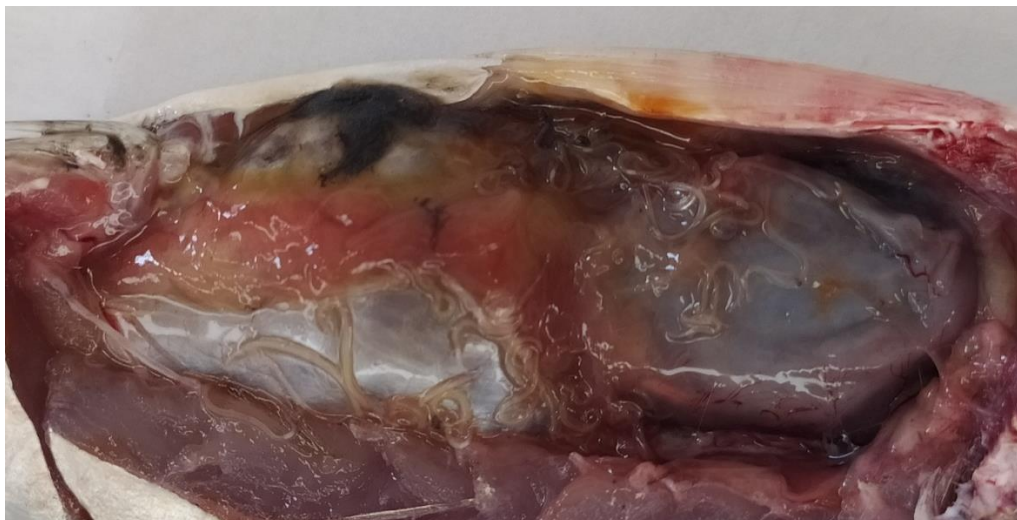
Od 32 jedinke mužjaka pregledanog oslića, u 23 je pronađen *Anisakis* spp. Prisutnost ovog parazita u obrađenim jedinkama mužjaka oslića je 71,88%. Jedinke koje nisu bile invadirane imale su raspon ukupne duljine od 16,9 do 38,4 cm. Ukupna duljina mužjaka oslića kretala se u rasponu od 16,9 do 45,9 cm s prosječnom duljinom od 27,81 cm.

3.4.2. Nalaz parazita u šarunu

U šarunu su paraziti uočeni duž cijele trbušne šupljine (Slika 33). Kod nekih jedinki svi organi trbušne šupljine su bili obavijeni sa *Anisakis* spp., a kod nekih su izlazili kroz analni otvor. Kod većine obrađenih jedinki paraziti su se nalazili na vezivnom tkivu u trbušnoj šupljini (Slika 34). Ni u jednom uzorku nisu nađeni u mišićnom tkivu. Prisutnost *Anisakis* spp. u uzorcima šaruna je 100%.



Slika 33. *Anisakis* spp. duž cijele trbušne šupljine šaruna *Trachurus trachurus* (Izvor fotografije: Stela Karović)



Slika 34. *Anisakis* spp. na vezivnom tkivu trbušne šupljine kod šaruna *Trachurus trachurus*
(Izvor fotografije: Stela Karović)

4. RASPRAVA

U uzgojenih riba, ličinke *Anisakis* spp. nemaju nikakav značaj kao uzročnici bolesti. Međutim, svako otkrivanje ovog parazita u dobivenim proizvodima uzgojene ribe moglo bi ozbiljno utjecati na povjerenje potrošača, ne samo zbog mogućeg zdravstvenog rizika koji predstavljaju ličinke, ali i zbog neprivlačnog izgleda ličinki, osobito dok su još žive. Ovi aspekti su posljednjih godina dobili na važnosti zbog povećane popularnosti azijskih jela koja se temelje na sirovim ili samo blago prerađenim ribljim proizvodima kao što su sushi i sashimi. Salmonidne vrste riba u morskim kavezima, uključujući atlantski losos, koho losos *Oncorhynchus kisutch* Walbaum, 1792 i kalifornijska pastrva *Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792 općenito se ne smatraju izloženim riziku za kontaminaciju ličinkama *Anisakis*, iako je zabilježena ličinka *Anisakis* u crijevnom cekumu jednog uzgojenog atlantskog lososa iz Britanske Kolumbije, Kanada. Pretpostavka da marikulturni salmonidi nisu invadirani parazitima temelji se na rezultatima niza istraživanja iz različitih zemalja ili područja. Neka novija istraživanja uključila su 166 morskih kaveza kalifornijske pastrve iz zapadnog Zelanda, Danske i 720 morskih uzgajanih atlantskih lososa iz raznih škotskih uzgajališta, ali nije pronađena nijedna zaražena riba. Uzgojeni europski brancin *Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758 i orada *Sparus aurata* Linnaeus, 1758 na jugoistoku Španjolske nisu sadržavali nikakve ličinke *Anisakis*. Očigledna odsutnost *Anisakis* spp. ličinki u ribi uzgojenoj u moru bila je uglavnom objašnjena sa širokom primjenom peletiranih i toplinski obrađenih krmnih smjesa. Tvrdilo se da upotreba umjetne prehrane smanjuje rizik od oportunističkog hranjenja ribe iz uzgoja slobodnoživućim divljim plijenom koji može povremeno ulaziti u kaveze. Na temelju ovih razmatranja, važeće zakonodavstvo EU (Uredba (EU) 1276/2011) navodi da uzgojena riba može biti izuzeta od takozvanog zahtjeva za zamrzavanje pod uvjetom da se uzgaja od embrionalnog razvoja i da se hrani isključivo hranom koja ne može sadržavati parazite. Međutim, nedavna istraživanja otkrila su prisutnost *A. simplex* u jedinkama uzgojenog atlantskog lososa u južnoj i zapadnoj Norveškoj i uzgojenoj kalifornijskoj pastrvi sa sjeverne norveške lokacije (Mattiucci i sur., 2018).

U istraživanju Kozačinski i suradnika (2006) *Anisakis* spp. pronađen je u 66,4% jedinki pregledanih oslića. Važno je napomenuti da različite zemlje imaju različite nacionalne propise za kontrolu nematoda u ribljim proizvodima. Uvoznici i izvoznici trebaju biti svjesni zahtjeva važećeg zakonodavstva. Unutar Europske unije, lagano sušeni proizvodi, kao što su marinade i dimljena riba koji su namijenjeni za konzumaciju bez daljnjeg kuhanja, moraju biti zamrznuti na temperaturi ne višoj od -20°C u svim dijelovima proizvoda ne manje od 24 sata. Ocjenjivanje

zdravstvene ispravnosti hrane u Hrvatskoj regulirano je Zakonom o hrani (NN 117/2003) i Pravilnikom o načinima veterinarsko-sanitarnog pregleda životinja prije klanja i prehrambenih proizvoda životinjskog podrijetla (NN 53/91). Prema Zakonu o hrani, opasnom za zdravlje ljudi smatra se hrana koja sadrži tkivne parazite opasne po zdravlje ljudi, kao i druge parazite koji prelaze dopuštene količine. Štoviše, hrana je neprikladna za ljudsku prehranu ako su senzorna svojstva hrane promijenjena zbog fizičkih, kemijskih, mikrobioloških ili drugih procesa. Smrznuta riba smatra se higijenski neprihvatljivom za prehranu ljudi ako njeno meso sadrži patogene razvojne stadije *Anisakis* spp. ili druge parazite i njihove razvojne stadije.

Prema Valero i suradnicima (2006), pregledano je 133 jedinki oslića iz atlantskog oceana i 63 iz Mediterana. Jedinke su uzorkovane od 1998. do 1999., duljine od 40 do 52 cm. U pregledanom osliću porijeklom iz atlantskog oceana ukupna prisutnost parazita *Anisakis* spp. je bila 87,97%, dok je u osliću iz Mediterana prisutnost 41,27%. Jedinke koje su bile veće od 46 cm su imale prisutnost od 94,87% za one iz Atlantika i 58,33% za one iz Mediterana. Ova usporedba sugerira da jedinke iste veličine iz Atlantika i Mediterana imaju znatne razlike u prisutnosti parazita. U oba uzorka, prisutnost ličinki u trbušnoj šupljini bila je jasno veća nego u mišićnom tkivu, što se djelomično podudara sa rezultatima dobivenim u ovom radu, gdje je nalaz parazita bio u trbušnoj šupljini obrađenih jedinki oslića, dok u mišićnom tkivu nisu nađeni uzorci *Anisakis* spp. Kada se usporede rezultati navedenih istraživanja o nalazu *Anisakis* spp. u osliću može se doći do zaključka da je prisutnost ovog parazita manja kada se radi o Mediteranu. Rezultati dobiveni u ovom istraživanju su najpribližniji istraživanju Kozačinski i sur. (2003), gdje je prevalencija bila 66,4%, dok je u ovom radu prevalencija 74%. S obzirom na navedene propise Hrvatske, Zakon o hrani (NN 117/2003) i Pravilnik o načinima veterinarsko-sanitarnog pregleda životinja prije klanja i prehrambenih proizvoda životinjskog podrijetla (NN 53/91), ispitani uzorci oslića nisu zdravstveno ispravni zbog nalaza parazita štetnih za ljudsko zdravlje, kao i zbog organoleptičkih promjena izazvanih apatogenim parazitima. Prema Bartula (2014), pregledano je i analizirano 46 zamrznutih fileta oslića u kojima je prevalencija *Anisakis* spp. bila 56,5%. Pronađeni paraziti su se nalazili u mišićima, za razliku od ovog rada gdje su paraziti bili u trbušnoj šupljini, posebice na gonadama i okolnom vezinom tkivu. Ovi rezultati sugeriraju da je mogućnost pronalaska *Anisakis* spp. u mišićima riba veća kod zamrznutih fileta nego kod svježe ulovljene ribe. U ovom radu, rezultati pregledanih jedinki ženki oslića pokazuju povezanost između veličine i invadiranosti ribe. Jedinke koje nisu imale prisutnost parazita su bile manje duljine, od 17,2 do 19,9 cm, dok su jedinke većih duljina bila invadirane sa *Anisakis* spp. Ova zapažanja sugeriraju da ličinke ovog parazita invadiraju veće jedinke. Kod mužjaka

oslića, analiza povezanosti veličine i invadiranosti je malo drugačija. Obradene jedinke mužjaka nisu pokazale značajnu razliku u invadiranosti i neinvadiranosti s obzirom na duljinu. Najmanja jedinka koja nije bila zaražena je imala duljinu od 16,9 cm, a najveća 38,4 cm. Ovo pak sugerira da infekcija *Anisakis* spp. nema utjecaj na veličinu zaražene ribe.

U istraživanju Serracca i suradnika (2014), pregledano je 750 jedinki srdela na prevalenciju *Anisakis* parazita, u kojima nije nađen niti jedan uzorak. Isti rezultat je bio i u ovom istraživanju, što sugerira da je mogućnost zaraze anisakijazom obrađenim jedinkama vrlo niska do nemoguća.

U istraživanju Tantanasi i suradnika (2012), otkrivena je prevalencija od 98,8% *Anisakis* spp. u šarunima iz sjevernog Egejskog mora. Rezultati ovog istraživanja su jako slični rezultatima u ovom radu gdje je prisutnost *Anisakis* spp. 100%. Ovo ukazuje da su ovi uzorci jako invadirani parazitima, te da su jako rizični po ljudsko zdravlje, stoga bi se trebala izbjegavati konzumacija ribe koja nije obrađena po svim propisima Europske unije. U ovom radu nisu sprovedene daljnje statističke analize invadiranosti šaruna sa *Anisakis* spp. s obzirom na duljinu i spol zbog očitih rezultata od 100 %-ne infekcije bez obzira na veličinu i spol, što sugerira da prisutnost parazita nema utjecaja na ove faktore.

Prema Serracca i sur. (2013), uzorkovano je i analizirano 67 jedinki trlje iz sjevernog Ligurskog mora u kojima je utvrđena prisutnost parazita *Anisakis* u 17 jedinki, što govori da je prisutnost 25,4%. U ovom radu prevalencija *Anisakis* spp. u obrađenim trljama je bila 0% što govori da je mogućnost zaraze anisakijazom obrađenih jedinki vrlo niska.

U istraživanju provedenom uz istočnu obalu Alžira uzorkovano je 455 jedinki bukve u kojima je prvi put na ovom području identificiran *Anisakis* spp. (Ichalal i sur., 2015). U istraživanju Silva i Eiras (2003) analizirane jedinke bukve uzorkovane se područja zapadne obale Portugala nisu sadržavale niti jednu vrstu *Anisakis*. Prema Serracca i sur. (2014), pregledano je 18 jedinki bukve iz područja sjevernog Ligurskog mora u kojima je prikupljeno 10 jedinki *Anisakis* spp. Od 18 analiziranih jedinki, 6 je bilo invadirano ovim parazitom sa prisutnosti od 33,3%. Kada se usporede rezultati ova tri istraživanja, sa rezultatima dobivenim u ovom radu, može se zaključiti da je najbliži ishod istraživanja kod Silva i Eiras (2003). Jedinke bukve obrađene u ovom radu nisu bile invadirane ovim parazitom i mogućnost zaraze anisakijazom je vrlo niska.

5. ZAKLJUČAK

Paraziti roda *Anisakis* su nametnici koji invadiraju utrobu komercijalno dostupnih vrsta poput oslića, incuna, bakalara, haringe, srdele, trlje od kamena, trlje od blata, ugotice, šaruna i tune. Ove vrste nastanjuje u obliku ličinke L3, iz kojih se dalje prenosi u morske sisavce u kojima se razvija do odraslog stadija, a može zaraziti i čovjeka koji se pojavljuje kao slučajni domaćin.

U ovom radu analizirano je pet tržišno dostupnih vrsta uzetih sa dubrovačke ribarnice. Analizirane vrste bile su oslić, srdela, šarun, bukva i trlja od blata. Ukupno je analizirano 210 jedinki, duljine od 11,4 do 45,9 cm, od kojih je 67 jedinki bilo invadirano parazitom *Anisakis* spp. Svi paraziti nađeni su u trbušnoj šupljini, posebice oko i na gonadama, te na okolnom vezivnom tkivu. Niti jedan parazit nije nađen u mišićnom tkivu pregledanih jedinki.

Od 50 jedinki srdele, 30 jedinki bukve i 50 jedinki trlje ni jedna nije bila invadirana ovim parazitom, što sugerira da je mogućnost zaraze anisakijazom iz ovih jedinki vrlo niska do nemoguća.

U obrađenim jedinkama oslića, u 37 od 50 pronađena je prisutnost *Anisakis* spp., od toga u 14 od 18 kod ženki i u 23 od 32 kod mužjaka, stoga je prisutnost ovog parazita kod ove vrste 74% za ukupni broj jedinki, što nam govori da je mogućnost zaraze anisakijazom iz obrađenog oslića visoka te bi se trebala izbjegavati konzumacija ribe koja nije skladištena i pripravljena po propisima EU.

Svih 30 obrađenih jedinki šaruna imale su prisutnost ovog nametnika, sa prevalencijom od 100%, što nam sugerira da je mogućnost zaraze s *Anisakis* spp. iz ovih pregledanih jedinki jako visoka i trebalo bi se postupati s visokim oprezom na propise pri pripremanju ribe za konzumaciju.

6. LITERATURA

- Abattouy, N., López, A., Maldonado, J., Benajiba, M., Martín-Sánchez, J. 2014. Epidemiology and molecular identification of *Anisakis pegreffii* (Nematoda: *Anisakidae*) in the horse mackerel *Trachurus trachurus* from northern Morocco. *Journal of Helminthology*, 88(3), 257-263
- Abaunza, P., Gordo, L., Karlou-Riga, C., Murta, A., Eltink, A. T. G. W., García, M. T. S., Zimmermann, C., Hammer, C., Lucio, P., Iversen, S. A., Molloy, J., Gallo, E. 2003. Growth and reproduction of horse mackerel, *Trachurus trachurus* (carangidae). *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. Volume 13, 27–61
- Allan, B. J. M., Illing, B., Fakan, E. P., Narvaez, P., Grutter, A. S., Sikkil, P. C., McClure, E. C., Rummer, J. L., McCormick, M. I. 2020. Parasite infection directly impacts escape response and stress levels in fish. *Journal of Experimental Biology*. 223, jeb230904
- Audicana, M. T., Ansotegui, I. J., de Corres, L. F., Kennedy, M. W. 2002. *Anisakis simplex*: dangerous — dead and alive? *Trends in Parasitology*, 18(1), 20–25
- Berland, B. 1964. *Phocascaris cystophorae* sp. nov. (Nematoda) from the hooded seal, with an emendation of the genus. *Arbok for Universitetet i Bergen, Mat.-naturv.*, 1963 17, 1–21
- Cohen, D. M., Inada, T., Iwamoto, T., Scialabba, N. 1990. *FAO Species Catalogue*. Vol.10 Gadiform Fishes of the World. *FAO Fisheries Synopsis No. 125*, Volume 10. 339-340
- Davey, J. T. 1971. A revision of the genus *Anisakis* Dujardin, 1845 (Nematoda: Ascaridata). *J. Helminthol.* 45, 51–72
- Galhardo, L., Oliveira, R. F. 2009. Psychological Stress and Welfare in Fish. *Annual Review of Biomedical Sciences*. 11:1-20
- 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
- Green, C., Haukenes, A. 2015. The Role of Stress in Fish Disease. *Southern Regional Aquaculture Center*. 474

- Ichalal, K., Ramdane, Z., Ider, D., Kacher, M., Iguerouada, M., Trilles, J.-P., Courcot, L., Amara, R. 2015. Nematodes parasitizing *Trachurus trachurus* (L.) and *Boops boops* (L.) from Algeria. *Parasitology Research*, 114(11)
- Jardas, I. 1996. *Jadranska ihtiofauna*. Školska knjiga, Zagreb, 268 pp
- Kozačinski, L., Zdolec, N., Hadžiosmanović, M., Cvrtila, Ž., Filipović, I. 2006. Assessment of Parasitic Invasions in Fish Meat on the Croatian Market. *Meso*. Vol. VII (2006) rujan - listopad br. 5. str. 290-293
- Lafferty, K. D. Kuris, A. M. 1999. How environmental stress affects the impacts of parasites. *American Society of Limnology and Oceanography*, Inc. 44(3, part 2), 925–931
- Landsberg, J. H., Blakesley, B. A. Reese, R. O., Mcrae, G., Forstchen, P. R. 1998. Parasites of fish as indicators of environmental stress. *Environmental monitoring and assessment*. 51: 211-232
- Levsen, A., Berland, B. 2012. *Anisakis* Species. *Fish Parasites: Pathobiology and Protection*. CAB International 2012. 298-307
- Marcogliese, D. J., Pietrock, M. 2011. Combined effects of parasites and contaminants on animal health: parasites do matter. *Trends in Parasitology*. Vol. 27, No. 3
- Mattiucci, S., Cipriani, P., Levsen, A., Paoletti, M., Nascetti, G. 2018. Molecular Epidemiology of *Anisakis* and Anisakiasis: An Ecological and Evolutionary Road Map. *Advances in Parasitology*, 93–263.
- Mattiucci, S., & Nascetti, G. 2008. Chapter 2 Advances and Trends in the Molecular Systematics of Anisakid Nematodes, with Implications for their Evolutionary Ecology and Host—Parasite Co-evolutionary Processes. *Advances in Parasitology*. 47–148.
- Mladineo, I. 2003. *Anisakis simplex* in Adriatic Sea. *Period. Biolog.* 105(4), 389-392.
- Molina-Fernández, D., Malagón, D., Gómez-Mateos, M., Benítez, R., Martín-Sánchez, J., Adroher, F. J. 2015. Fishing area and fish size as risk factors of *Anisakis* infection in sardines (*Sardina pilchardus*) from Iberian waters, southwestern Europe. *International Journal of Food Microbiology*, 203, 27–34

- Nagasawa, K. 1990. The Life Cycle of *Anisakis simplex*: A Review. Intestinal Anisakiasis in Japan, 31–40.
- Pampiglione, S., Rivasi, F., Criscuolo, M., De Benedittis, A., Gentile, A., Russo, S. 2002. Human anisakiasis in Italy: a report of eleven new cases. Pathol. Res. Pract. 198, 429-434.
- Petitjean, Q., Jean, S., Gandar, A., Cote, J., Laffaille, P., Jacquin, L. 2019. Science of The Total Environment. Volume 684. 371-380
- Ricker, W. E. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish population. Bull. Fish. Res. Bord. Can. 191:1 – 382
- Sakanari, A. J., Mckerrow H. J. 1989. Anisakiasis. Clinical Microbiology Reviews, July 1989. p.278-284 Vol.2, No.3, 0893-8512/89/030278-0702.00/0
- Scholz, T., Choudhury, A. 2014. Parasites of Freshwater Fishes In North America: Why So Neglected? American Society of Parasitologists. 100(1):26-45
- Serracca, L., Battistini, R., Rossini, I., Carducci, A., Verani, M., Prearo, M., Tomei, L., De Montis, G., Ercolini, C. 2014. Food safety considerations in relation to *Anisakis pegreffii* in anchovies (*Engraulis encrasicolus*) and sardines (*Sardina pilchardus*) fished off the Ligurian Coast (Cinque Terre National Park, NW Mediterranean). International Journal of Food Microbiology, 190, 79–83
- Serracca, L., Cencetti, E., Battistini, R., Rossini, I., Prearo, M., Pavoletti, E., Fioravanti, M. L., Righetti, M., Di Donfrancesco, B., Ercolini, C. 2013. Survey on the presence of *Anisakis* and *Hysterothylacium* larvae in fishes and squids caught in Ligurian Sea. Veterinary Parasitology, 196(3-4), 547–551
- Silva, M. E. R., Eiras, J.C. 2003. Occurrence of *Anisakis* sp. in fishes off the Portuguese West coast and evaluation of its zoonotic potential. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 23(1) 2003, 13
- Tantanasi, J., Diakou, A., Tamvakis, A., Batjakas, I. E. 2012. *Anisakis* spp. burden in *Trachurus trachurus*. Helminthologia. 49, 16–20
- Teskeredžić, E., Vardić Smrzlić, I., Valić, D., Kapetanović, D., Teskeredžić, Z. 2013. Anisakis-Anisakidoza. Institut Ruđer Bošković, Zagreb, Hrvatska. Str. 1-17

Valero, A., Mar López-Cuello, M., Benítez, R., Adroher, F. 2006. *Anisakis* spp. in European hake, *Merluccius merluccius* (L.) from the Atlantic off north-west Africa and the Mediterranean off southern Spain. *Acta Parasitologica*, 51(3)

Internet izvori

Food and Agriculture Organisation (FAO) (www.fao.org) - Datum posjeta: 1.6.2022.

FishBase (<https://www.fishbase.org>) - Datum posjeta: 1.6.2022.

ResearchGate (https://www.researchgate.net/figure/The-European-sardine-Sardina-pilchardus-photo-credit-C-Eduardo-Soares-IPMA_fig1_333269380) - Datum posjeta: 25.6.2022.

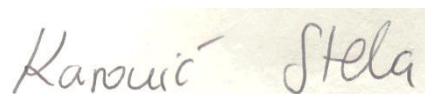
WoRMS (<https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=122889>) - Datum posjeta : 8.9. 2022.

IZJAVA

S punom odgovornošću izjavljujem da sam diplomski rad izradila samostalno, služeći se navedenim izvorima podataka i uz stručno vodstvo doc. dr. sc. Tatjane Dobroslavić i prof. dr. sc. Adnana Jažića.

Ime i prezime studentice: Stela Karović

Potpis:

Handwritten signature of Stela Karović in cursive script on a light-colored background.