

Current problems associated with *Anisakis simplex* – a parasite of marine fish

Bilska-Zajac E., Różycki M., Chmurzyńska E., Osek J., Department of Hygiene of Food of Animal Origin, National Veterinary Research Institute, Pulawy

The purpose of this paper was to present health problem associated with fish nematode parasite. *Anisakis simplex* occurs in a wide range of hosts. The environment in which this parasitic worm lives is the oceans and seas across the globe. Marine fish, mammals and crustaceans are among natural hosts for *A. simplex*. Anisakiasis is a zoonotic disease caused by the ingestion of larvae present in raw seafood. Symptoms of this disease include abdominal pain, vomiting, nausea and diarrhea. Diagnosis of anisakiasis is mainly based on endoscopy. In most cases the disease can be resolved only with symptomatic therapy. There are data on pharmacological treatment with albendazole and mebendazole. In some cases however, surgical expulsion of nematodes is necessary, especially when ulceration and necrosis of stomach tissues are present. Careful fish examination and cooking is obligatory to avoid human infection with *A. simplex*. Modern habit of eating raw fish such as sushi, sashimi and related meals significantly increases the risk of human anisakiasis.

Keywords: *Anisakis simplex*, anisakiasis, marine fish, mammals.

Środowisko wodne, naturalne miejsce bytowania ryb, jest uważane za szczególnie sprzyjające rozwojowi organizmów pasożytniczych. W rybach mogą

Aktualne problemy związane z *Anisakis simplex* – pasożytem ryb morskich

Ewa Bilska-Zajac, Mirosław Różycki, Ewa Chmurzyńska, Jacek Osek

z Zakładu Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

występować zarówno pasożyty szkodliwe, jak i nieszkodliwe dla zdrowia ludzi. Mogą one być obecne w mięśniach bądź w jamie ciała i wpływać negatywnie na wygląd ryb, a także na ich technologiczną przydatność (ryc. 1, 2, 3). Za szkodliwe dla zdrowia ludzi uważa się larwy przywr z rodzajów *Cryptocotyle* i *Opisthorchis*, tasiemców z rodzaju *Diphyllobothrium*, nicieni z rodzajów *Anisakis*, *Phocanema* (*Terranova*) i *Phocascaris*. Do pasożytów nieszkodliwych, a wpływających ujemnie na przydatność technologiczną mięsa ryb, można zaliczyć cysty sporowca *Kudoa*, przywry z rodziny *Didymozoonidae*, z rodzaju *Gyrodactylus*, larwy nicieni *Philometroides*, larwy tasiemców z rodziny Tetrarhynchidae, pasożytnicze skorupiaki *Sphyrion* i inne (1, 2, 3).

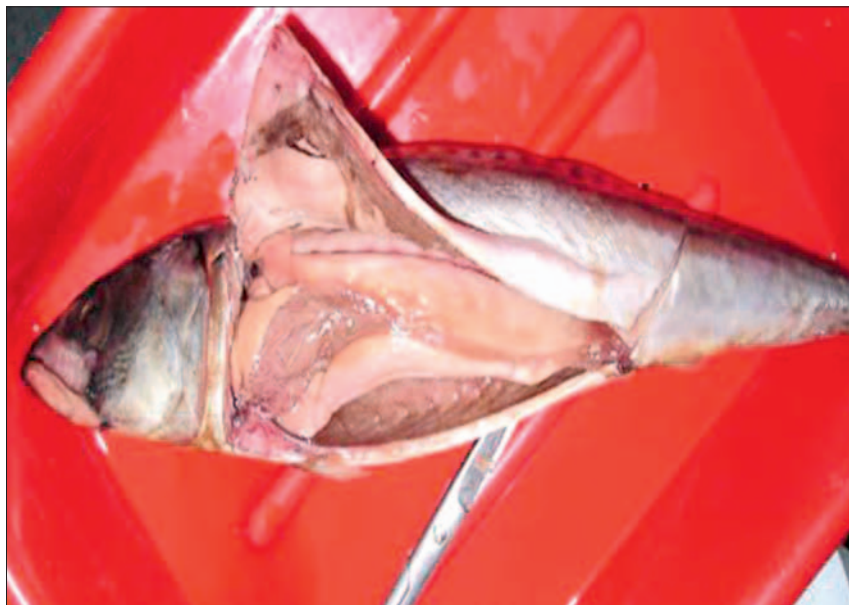
W tym opracowaniu podano podstawowe informacje dotyczące nicieni z rodzaju *Anisakis* spp., zagrożeń związanych ze spożyciem mięsa ryb zawierających żywe larwy, metod ich inaktywacji oraz podstaw prawnych dotyczących występowania tych pasożytów u ryb.

Nicienie są typem zwierząt bezkręgowych, z których większość prowadzi pasożytniczy tryb życia. Do najbardziej inwazyjnych dla człowieka należą: *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova decipiens*, *Contracaecum* i *Hysterotolacium*. Spośród wyżej wymienionych na szczególną uwagę zasługują larwy *Anisakis simplex*, które ze względu na częste występowanie w tuszach śledzi bywają nazywane robakami śledziowymi (4). Pasożyty te należą do rodziny *Anisakidae*. Jeszcze kilka lat temu gatunek ten uważano za kosmopolityczny, jednak najnowsze badania wykazały istnienie dwóch subpopulacji – atlantyckiej i pacyficznej. Postacie dojrzałe płciowo mają długość 20–70 mm, średnicę 1 mm, barwę białą lub jasnokremową. Samce są nieco mniejsze od samic. Ciało larw pokryte jest poprzecznie prążkowaną kutikulą. Cykl rozwojowy *A. simplex* jest złożony. Nicienie te pasożytują najczęściej u ssaków morskich, ryb morskich i skorupiaków. Ich żywicielami ostatecznymi są zazwyczaj delfiny białonose, butlonosy, foki kapturniki, wale, białuchy,

morświny i płetwale karłowate. W ostatnich latach obserwuje się zwiększenie występowania pasożytów w odławianych rybach. Prawdopodobnie przyczyną tego jest wzrost populacji ssaków morskich. Zapłodnione jaja zostają złożone przez samice do przewodu pokarmowego żywiciela ostatecznego i wraz z jego kałem dostają się do wody, gdzie w temperaturze 5–7°C po 20–27 dniach wylęgają się larwy I stadium, otoczone pochwą oskórkową i zdolne do pływania. Dalszy rozwój wymaga żywiciela pośredniego, którym są skorupiaki, głównie z gromady panczerwców. Po wykluciu się pierwszej postaci larwalnej – stadium L1, dochodzi do wylinek, które prowadzą do powstania form L2 oraz L3. Pasożyt w stadium L3 jest zdolny do zarażenia żywiciela ostatecznego. W cyklu rozwojowym *A. simplex* mogą występować także żywiele parateniczni (rezerwowi), np. ryby lub głowonogi spożywające zarażone skorupiaki. W ich organizmach larwa w stadium L3 umiejscawia się głównie pod otrzewną, pod torebką wątroby czy też między gonadami. Po odłowieniu ryb, jeśli nie zostaną one od razu wytrzewione, *Anisakis* wędrują z jamy ciała do mięśni, gdzie ich obecność stwarza ryzyko zarażenia się człowieka (2, 3, 4, 5).

Po raz pierwszy choroba wywołana przez *A. simplex* (anizakidoza) została opisana przez Leuckarta na Grenlandii w 1876 r. Bliższe informacje na jego temat pochodzą z lat 60. ubiegłego stulecia, z publikacji Van Thiela (6). W Holandii doszło wówczas do masowych zarażeń spowodowanych spożyciem lekko solonych śledzi, co było przyczyną wystąpienia 154 przypadków tej choroby (7). Wynikało to z wprowadzenia nowej technologii obróbki śledzi, która nie gwarantowała zabicia larw *Anisakis*. Po dokonaniu analizy wyników dochodzenia epidemiologicznego wprowadzono obowiązek 24-godzinnego mrożenia (w temp. –18°C) ryb w celu zabicia larw pasożyta.

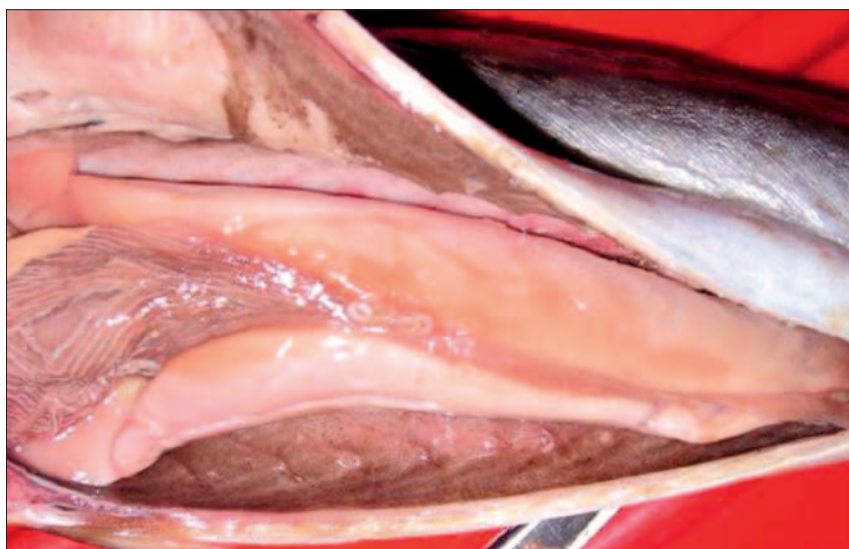
Anizakidoza najczęściej występuje w rejonach, gdzie tradycyjnie spożywa się ryby surowe. Z ponad 20 000 opisanych przypadków 90% miało miejsce w Japonii, gdzie każdego roku notuje się około 2000 zachorowań. W Europie najwięcej zarażeń *A. simplex* stwierdza się w Hiszpanii, Holandii i Niemczech. Najczęściej powodem wystąpienia choroby jest konsumpcja zarażonych łososi, dorszy, śledzi, tuńczyków, makreli, sardynek i soli. Biorąc pod uwagę wzrost zainteresowania potrawami zawierającymi surowe mięso ryb, takimi jak sushi, maki-sushi, sashimi, kamambuko, cebiche, boquerones, holenderskie solone i wędzone śledzie itp., trzeba liczyć się z tym, że ryzyko wystąpienia choroby wzrośnie również w innych rejonach Europy, w tym w Polsce.



Ryc. 1. Badanie narządów jamy brzusznej. Nacięcie w kształcie litery L, ocenia się barwę, zapach, konsystencję oraz obecność pasożytów



Ryc. 2. *Anisakis simplex* pomiędzy narządami wewnętrznymi ryby



Ryc. 3. *Anisakis simplex* widoczne po rozcięciu jamy brzusznej, tuż pod otrzewną



Ryc. 4. *Anisakis simplex* pozostałe na sitku po badaniu metodą wytrawiania



Ryc. 5. *Anisakis simplex* wytrawione z tkanki mięśniowej łososia

Do zarażenia *A. simplex* dochodzi, gdy obecne w tkance mięśniowej ryb żywe larwy w stadium L3 zostaną spożyte przez człowieka. Docierają wówczas do błony śluzowej żołądka lub jelit, gdzie najczęściej obumierają. W sprzyjających warunkach larwy penetrują błonę śluzową przewodu pokarmowego, lokalizując się następnie w trzustce, wątrobie, śledzionie lub płucach. Mogą one również przekształcać się w jelitach do stadium L4. Najczęściej jednak wnikają do błony śluzowej żołądka lub jelit, gdzie w obrazie endoskopowym stwierdza się zwinięte pasożyty, a dookoła nich nacieczenie komórek eozynofilnych. Larwy produkują czynnik, który uaktywnia białe krwinki, w wyniku czego dochodzi do zmian naciekowych w miejscu wniknięcia pasożyta, co często prowadzi do zmian ropnych, których usunięcie jest możliwe na drodze operacyjnej. Obecność *A. simplex* w błonie śluzowej przewodu pokarmowego

może doprowadzić do ostrego stanu zapalnego oraz ognisk martwicy w miejscu ich wniknięcia. Pojawia się wówczas ryzyko perforacji ścian układu pokarmowego. Typowe objawy zarażenia ujawniają się już po kilku godzinach od spożycia ryby z larwami *A. simplex* i są nimi zaburzenia żołądkowo-jelitowe w postaci nudności, wymiotów i ostrego bólu brzucha. Początkowe symptomy mogą przypominać chorobę nowotworową żołądka, zapalenie wyrostka robaczkowego, gruźlicze zapalenie otrzewnej czy też chorobę Leśniowskiego-Crohna. Anisakidoza ma charakter samoograniczający się, jednakże niekiedy konieczna jest chirurgiczna eliminacja pasożyta ze śluzówki przewodu pokarmowego. Ocena rozległości zniszczeń najczęściej dokonywana jest podczas operacyjnego lub endoskopowego usunięcia larw (2, 3, 5, 7, 8).

W większości przypadków zarażenie nie stanowi bezpośredniego zagrożenia dla

życia, jednakże może być groźne dla osób, u których występują reakcje uczuleniowe na białka larw *Anisakis*. Niekiedy, po spożyciu ryb zawierających te nicienie, występuje silna reakcja anafilaktyczna. Reakcje na alergeny *Anisakis* nie są sprawdzane w standardowych testach uczuleniowych, dlatego sytuacje te mylnie rozpoznawane są jako uczulenie na mięso ryb. Najczęstszymi objawami alergii spowodowanej spożyciem antygeny *A. simplex* są objawy skórne – wysypka, pokrzywka oraz nudności i zaburzenia żołądkowo-jelitowe.

Udowodniono, iż czynnik alergizujący zawarty w tuszach morszczuka zarażonego *A. simplex* jest aktywny nawet po 11 miesiącach mrożenia w temperaturze -20°C . Stwierdzono również oporność antygenów pasożyta na działanie wysokich temperatur, a także enzymów trawiennych. Stąd też u osób wrażliwych możliwe jest wystąpienie objawów po spożyciu pokarmów poddanych obróbce termicznej, które zawierają martwe larwy. Nawet śladowe ilości czynnika alergizującego w spożywanym pokarmie mogą wywołać nadmierną odpowiedź immunologiczną. Co ciekawe, nie tylko konsumpcja ryb zawierających antygen pasożyta stanowi zagrożenie, ale też mięso zwierząt karmionych mączkami rybnymi, zawierającymi alergen *A. simplex* może spowodować wystąpienie objawów uczuleniowych. Proces produkcji mączek rybnych powoduje, że znajdujące się tam larwy zamierają pod wpływem wysokich temperatur, jednakże czynnik alergizujący nie ulega inaktywacji. Ponadto fakt, iż jest on odporny na działanie enzymów trawiennych powoduje, że jest on nadal aktywny w tkankach zwierząt, które spożywały mączkę rybną (8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16).

U ludzi bez nadwrażliwości na antygen *A. simplex* spożycie ryb zawierających pasożyt może być bezobjawowe. Opisano przypadki, kiedy podczas zabiegu endoskopowego bądź też operacji chirurgicznej, ze śluzówki żołądka usuwane były przypadkowo wykryte larwy *A. simplex*. Interwencja medyczna jest wymagana w sytuacjach, które zagrażają zdrowiu lub życiu człowieka, przy wystąpieniu odczynów zapalnych i martwicy. Oprócz metody operacyjnej stosuje się również leczenie farmakologiczne. Lekami z wyboru są albendazol i mebendazol, jednak ich skuteczność jest kwestionowana (17).

Zapobieganie zarażeniom, podobnie jak w przypadku innych robaczyc, polega na wykluczeniu pasożytów z łańcucha żywieniowego lub na inaktywacji larw *A. simplex*. Jedynie spożycie ryb poddanych odpowiedniej obróbce termicznej jest w stanie uchronić konsumenta od anisakidozy. Ryby i produkty

rybne trafiające na rynek Polski oraz innych krajów Unii Europejskiej muszą spełniać wymagania bezpieczeństwa żywności. Zgodnie z prawodawstwem UE sposób postępowania z produktami rybołówstwa określa rozporządzenie (WE) nr 854/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z 29 kwietnia 2004 r. (18). Oprócz wyżej wymienionego rozporządzenia istnieje również krajowy akt prawny, a mianowicie rozporządzenie ministra rolnictwa i rozwoju wsi z 24 maja 2004 r. w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji i dla produktów rybołówstwa (DzU z 9 czerwca 2004 r.). Przedstawia ono sposób postępowania z rybami i produktami z ryb w celu wykrycia i usunięcia pasożytów. Powyższe przepisy dotyczą jednak tylko pasożytów zewnętrznych. Nie sposób zatem odnosić się do nich przy badaniu ryb na obecność pasożytów wewnętrznych, tym bardziej, że nie jest możliwe przebadanie każdej ryby pojedynczo.

Ocenę partii ryb lub produktów rybnych pod względem występowania pasożytów wewnętrznych wydaje się na podstawie badania próbki reprezentatywnej. Najczęściej używaną do tego celu techniką jest oglądanie tkanki mięśniowej ryb pod kompresorem z podświetleniem lub wytrawianie w sztucznym soku żołądkowym. Aby próbka była reprezentatywna do badań parazytologicznych z każdej partii powinno się pobrać losowo z różnych miejsc 20 podpróbek. Łączna masa filetów bez skóry powinna wynosić 5000 g. W przypadku ryb całych lub po wstępnej obróbce do badania powinno się pobrać próbkę o łącznej masie 10 000 g. Metoda kompresorowa pozwala wykryć w mięśniach badanych ryb obecność pasożytów, takich jak cysty pierwotniaków, np. *Kudoa alliardii*, plerocerkoidy tasiemców, metacerkarie przywr, larwy nicieni oraz części pasożytniczych skorupiaków zagłębione w tkance mięśniowej. Ryby całe, patroszone, odgławiane, tusze, kawałki ryb poddaje się filetowaniu. Filety ze skórą odskórza się, w przypadku ryb z ciemną otrzewną należy usunąć błonę otrzewną. Próbkę, o masie około 250 g każda, umieszcza się kolejno w kompresorze, a następnie dociska tak, aby odległość pomiędzy dwoma płytami szklanymi wynosiła w przybliżeniu 5 mm. Źródło światła umieszczone pod kompresorem powinno zapewnić natężenie oświetlenia w granicach 50 luksów. Przeglądając preparat szuka się pasożytów w próbce. Suma zliczonych pasożytów podzielona przez liczbę próbek daje średnią liczbę pasożytów w jednej próbce o masie 250 g. Uzyskany wynik wskazuje na stopień zarażenia (19).

Drugą metodą stosowaną do badania w kierunku obecności nicieni jest wytrawianie tkanki mięśniowej ryb

w sztucznym soku żołądkowym. Schemat postępowania oparty jest na zasadzie badania mięsa świń w kierunku włośni. Próbkę reprezentatywną o masie 200 g poddaje się delikatnemu rozdrobnieniu, bez użycia noży czy nożyczek, a następnie umieszcza się w zlewce z płynem trawiącym, złożonym z wody – 2 l, kwasu solnego 25% – 16 ml i pepsyny 2000 FIP – 10 g. Następnie zlewkę z płynem oraz próbkę umieszcza się na mieszadle magnetycznym, które ma utrzymywać delikatne mieszanie w granicach 200–300 obrotów oraz temperaturę płynu 44–46°C. Proces wytrawiania w tych warunkach trwa około 1 h, w zależności od rodzaju i stopnia rozdrobnienia próbki. Po rozpuszczeniu tkanki mięśniowej płyn przelewa się przez sitko o średnicy oczek 180 µm, jeśli w tkance mięśniowej ryby znajdowały się larwy *A. simplex*, pozostają one na sitku (ryc. 4, 5). Badania walidacyjne wykazały, że metodą kompresorową wykrywa się około 50% pasożytów, natomiast metodą wytrawiania 75%.

W 2001 r. w Hiszpanii opracowano molekularną metodę wykrywania DNA larw nicieni z rodzaju *Anisakis*, jak również *Contracoecum*, *Hysterothylacium* i *Pseudoterranova*. W analizowanym produkcie można wykryć nawet bardzo niewielką ilość DNA pasożyta, a mianowicie 0,05 pg. Zaletą tego testu jest możliwość zastosowania do badania produktów rozdrobnionych i przetworzonych (5). Niezależnie od wyniku badania wymaga się, aby ryby były poddane mrożeniu w temperaturze –18°C przez 24 h, co pozwala na skuteczne zabicie larw. Wymóg ten nie dotyczy jedynie łososi hodowlanych, ze względu na niskie ryzyko zarażenia. Podobny efekt można uzyskać poprzez solenie, gdy w końcowej fazie wysalania zawartość soli w mięsie wynosi powyżej 14% i upływie 6-tygodniowego wysalania (gęstość solanki powyżej 1,19 g/cm³) lub też przez obróbkę cieplną, w której tkanka mięśniowa w centrum termicznym zostanie podgrzana do temperatury powyżej 60°C.

W Polsce, podobnie jak w pozostałych krajach europejskich, brakuje jednoznacznych kryteriów oceny występowania pasożytów u ryb. W Europie obowiązywała dyrektywa Rady 91/493/EWG z 22 lipca 1991 r., ustanawiająca warunki zdrowotne dotyczące produkcji i wprowadzania do obrotu produktów rybołówstwa (20). Lakoniczna informacja zawarta w rozdziale 5 „Warunki dotyczące pasożytów” ustalała: podczas produkcji, a przed ich przekazaniem do spożycia przez ludzi, ryby i produkty rybne muszą być poddane wzrokowej kontroli w celu wykrycia i usunięcia jakichkolwiek

SELENO-VIT kapsuły

Preparat odpornościowy dla cieląt w okresie neonatalnym



SELENO-VIT to:

- większy status immunologiczny cieląt
- mniej chorób, biegunek
- pewniejszy odchow

Skład:

selenian sodu, glystar żelaza, jodan wapnia, wit. A, D3, E, siara, prebiotyki

LATO-VIT kapsuły

Na problemy z rozrodem

LATO-VIT to:

- pewniejsze cykle owulacyjne
- wyraźne ruje
- wyższy stopień zapłodnienia
- mniej problemów z rozrodem

Skład:

tlenek cynku, tlenek manganu, tlenek miedzi, jodan wapnia, węglan kobaltu, selenian sodu, niacyna, wit. E, A

MIEDŹ kapsuły

Okres wchłaniania min. 6 miesięcy



07-410 Ostrołęka ul. Targowa 41
tel./faks 029 767 87 41
e-mail: biuro@jfarm.pl
www.jfarm.pl

widocznych pasożytów; ryby lub ich części, które są w oczywisty sposób zarażone pasożytami, a które usunięto, nie mogą być kierowane na rynek, jako produkt do spożycia przez ludzi. Zasady badania miały zostać opracowane zgodnie z procedurą określoną w niniejszej dyrektywie w art. 15, na wniosek Komisji przedłożony przed 1 października 1992 r. Niestety, nigdy się nie ukazały.

Zgodnie z wymaganiami obowiązującego obecnie w UE rozporządzenia (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z 29 kwietnia 2004 r. ryby i produkty rybne muszą dodatkowo być poddane zamrożeniu do temperatury nie wyższej niż -20°C w każdej części produktu i przechowywane w tej temperaturze nie krócej niż przez 24 godziny. Produkty poddane takiemu procesowi zamrażania muszą być, albo produktem surowym albo gotowym do konsumpcji. Dotyczy to również ryb spożywanych w stanie surowym albo prawie surowym, np. maatje („matjas holenderski”), ryb gatunków wędzonych na zimno, jak: śledź, makrela, szprot, łosoś atlantycki i pacyficzny (dziki) oraz marynowanych i/lub solonych śledzi, gdy proces przetwórczy jest niewystarczający do zabicia larw nicieni (21). Opracowana w latach 80. XX w. przez Morski Instytut Rybacki Polska Norma PN-93/A-86733 „Ryby i inne zwierzęta wodne świeże i mrożone. Oznaczanie zapasożycenia i kryteria oceny” była znacznie dokładniejsza i stanowiła wykładnię oceny przydatności ryb pod względem występowania pasożytów (22). Według tej normy stopień zarażenia ryb może być oceniany w czterostopniowej skali. W tabeli 1 przedstawiono kryteria tej oceny.

Należy jednak pamiętać, iż ryby świeże z pasożytami szkodliwymi dla ludzi nie mogą być przeznaczone bezpośrednio do spożycia, obrotu handlowego, przetwórstwa wykorzystującego technologie nie nieszkodliwiające pasożytów. Jeżeli to możliwe, obróbka powinna zakładać także redukcję liczby nicieni, a w każdym przypadku ich nieszkodliwienie. Ryby

ze skupiskami odrażających pasożytów powinny być odpowiednio oprawione i wysortowane. Ryby bez pasożytów nadają się do wszechstronnego wykorzystania, a pozostałe na cele pozakonsumpcyjne. Partie ryb o silnym stopniu zarażenia nie nadają się do obrotu i przetwórstwa. Mogą one być użyte do produkcji mączki paszowej albo jako karma dla zwierząt, po unieszkodliwieniu tych pasożytów. Do dziś Inspekcja Weterynaryjna posiłkuje się wytycznymi tej normy przy ocenie ryb. Istnieje pilna potrzeba opracowania nowych kryteriów w oparciu o naukową opinię i oszacowanie ryzyka, przedstawione przez komitet naukowy Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) w 2010 r. (23). W obecnej sytuacji, z wyjątkiem łososi hodowlanych, żaden z gatunków ryb poławianych w morzach, ani żaden obszar połowowy nie może być uznany za wolny od larw *Anisakis*. Konieczne jest podjęcie badań mających na celu ustalenie wpływu różnych metod hodowli ryb na ich stopień zarażenia larwami, w szczególności w odniesieniu do produktów, które mają być spożywane na surowo. Niezbędne jest również zebranie danych dotyczących cyklu rozwojowego pasożytów, ich geograficznej dystrybucji, sezonowości zarażeń i anatomicznej lokalizacji pasożytów w poławianych rybach.

Reasumując, należy spodziewać się, iż zmiany kulturowe, żywieniowe oraz wzrost liczby zarażonych ryb może w sposób znaczący zwiększyć ryzyko związane z *A. simplex*. Aby temu zapobiec, konieczne jest powstanie jasnych i jednoznacznych uregulowań prawnych w zakresie badania parazytologicznego ryb. Regulacje te są również niezbędne do prawidłowego funkcjonowania Inspekcji Weterynaryjnej. Podejmując decyzję, lekarz weterynarii powinien mieć jasną wykładnię prawną, przepisy i kryteria, na które może się powołać.

Piśmiennictwo

1. Audicana M. T., Kennedy M. W.: *Anisakis simplex* from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. *Clin. Microbiol. Rev.* 2008, **21**, 360-379.
2. Grabda J.: *Zarys parazytologii ryb morskich*. PWN Warszawa 1981.
3. Grabda J.: *Marine fish parasitology*. PWN Warszawa 1991.
4. Guz L., Studzińska M. B., Sadzikowski A. B., Gundlach J.L.: *Anisakioza. Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska Lublin – Polonia* 2005, **10**, 10.
5. <http://esciencenews.com>
6. Van Thiel P. H.: *Anisakis. Parasitology* 1960, **53**, 16.
7. Van Thiel P. H., Kuipers F. C., Roskam R. T.: A nematode parasitic to herring causing acute abdominal syndromes in man. *Trop. Geogr. Med.* 1962, **2**, 97-113.
8. Danek K., Rogala B.: *Anisakis simplex* – ukryty alergen u ryb. *Alerg. Astma Immun.* 2005, **10**, 1-5.
9. <http://www.fda.gov>
10. Armentia A., Martín-Gil F. J., Pascual C., Martín-Esteban M., Callejo A., Martínez C.: *Anisakis simplex* allergy after eating chicken meat. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2006, **16**, 258-263.

11. Rodríguez-Mahillo A. I., González-Muñoz M., de las Heras C., Tejada M., Moneo I.: Quantification of *Anisakis simplex* allergens in fresh, long-term frozen, and cooked fish muscle. *Foodborne Pathog. Dis.* 2010, **7**, 967-973.
12. Caballero M. L., Moneo I.: Several allergens from *Anisakis simplex* are highly resistant to heat and pepsin treatments. *Parasitol. Resp.* 2004, **93**, 248-251.
13. Moneo I., Caballero M. L., Gonzalez-Muñoz M., Rodriguez-Mahillo A. I., Rodriguez-Perez R., Silva A.: Isolation of a heatresistant allergen from the fish parasite *Anisakis simplex*. *Parasitol. Resp.* 2005, **96**, 285-289.
14. Rodriguez-Mahillo A. I., Gonzalez-Muñoz M., Gomez-Aguadob F., Rodriguez-Perez R., Corcuera M. T., Caballero M. L., Moneo I.: Cloning and characterisation of the *Anisakis simplex* allergen Ani s 4 as a cysteine-protease inhibitor. *Int. J. Parasitol.* 2007, **8**, 907-917.
15. Lorenzo S., Iglesias R., Leiro J., Ubiera F. M.: Usefulness of currently available methods for the diagnosis of *Anisakis simplex* allergy. *Allergy* 2000, **50**, 627-633.
16. Gonzalez-Munoz M., Luque R., Nauwelaers F., Moneo I.: Detection of *Anisakis simplex*-induced basophil activation by flow cytometry. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry* 2005, **1**, 31-36.
17. <http://bioweb.uwlax.edu>
18. Rozporządzenie (WE) nr 854/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawiające szczególne przepisy dotyczące organizacji urzędowych kontroli w odniesieniu do produktów pochodzenia zwierzęcego przeznaczonych do spożycia przez ludzi.
19. Wasilewski J.: *Kwalifikacja sanitarna mięsa ryb dalekomorskich zakażonych pasożytami na podstawie rutynowych badań*. Wrocław 1986.
20. Dyrektywa Rady 91/493/EWG z dnia 22 lipca 1991 r. ustanawiająca warunki zdrowotne dotyczące produkcji i wprowadzania do obrotu produktów rybołówstwa.
21. Rozporządzenie (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawiające szczególne przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego.
22. PN-93/A-86733 Ryby i inne zwierzęta wodne świeże i mrożone Oznaczanie zapasożycenia i kryteria oceny.
23. <http://www.efsa.europa.eu>

Tabela 1. Kryteria określania zapasożycenia ryb wg PN - 93/A-86733

Stopień zapasożycenia	Liczba pasożytów w 250 g próbki	Oznaczenie stopnia zapasożycenia
Zerowy stopień zapasożycenia	do 1	0°z
Pierwszy stopień zapasożycenia	1 - 4	1°z
Drugi stopień zapasożycenia	4 - 9	2°z
Trzeci stopień zapasożycenia	powyżej 9	3°z

Lekarz wet. Ewa Bilaska-Zajac, e-mail: ewa.bilaska@pi-wet.pulawy.pl