



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«Υδατοκαλλιέργειες» -

«Παθολογικά Προβλήματα Εκτρεφόμενων Υδρόβιων Οργανισμών»

ΣΕ ΣΥΜΠΡΑΞΗ ΜΕ ΤΟ ΤΜΗΜΑ ΙΧΘΥΟΚΟΜΙΑΣ-ΑΛΙΕΙΑΣ ΤΟΥ Τ.Ε.Ι. ΗΠΕΙΡΟΥ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ:

**“ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΠΑΡΑΣΙΤΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΙΧΘΥΩΝ ΤΟΥ
ΕΜΠΟΡΙΟΥ ΑΠΟ ΠΑΡΑΣΙΤΑ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *ANISAKIS* ”**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΣ ΦΟΙΤΗΤΗΣ

Ηλίας Α. Χαληγιάννης

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

Σμαράγδα Σωτηράκη

ΚΑΡΔΙΤΣΑ 2010



UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

POSTGRADUATE STUDIES PROGRAM

“Aquaculture” – “Aquatic Animal Health”

IN COLLABORATION WITH

THE DEPARTMENT OF AQUACULTURE & FISHERIES, TEI OF EPIRUS

Thesis:

**“ SURVEY ON THE PREVALENCE OF THE GENUS ANISAKIS SPP. IN
COMMERCIAL SEAWATER FISH”**

POSTGRADUATE STUDENT

Ilias A. Chaligiannis

SUPERVISOR

Smaragda Sotiraki

KARDITSA 2010

2

Στους γονείς μου

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της έρευνας αυτής ήταν να μελετηθεί η επιζωοτιολογία του γένους *Anisakis* σε ιχθύες του εμπορίου.

Το περιεχόμενο της εργασίας αυτής χωρίζεται σε δύο μέρη, το γενικό και το ειδικό μέρος.

Στο πρώτο μέρος γίνεται βιβλιογραφική ανασκόπηση σχετική με τη μορφολογία, τη βιολογία και το νόσημα που προκαλεί το παράσιτο αυτό.

Στο δεύτερο μέρος παρουσιάζεται η έρευνα του συγγραφέα κατά την οποία διερευνήθηκε η συχνότητα μόλυνσης των ιχθύων από το παράσιτο αυτό. Η έρευνα πραγματοποιήθηκε στην Ιχθυόσκαλα του δήμου Μηχανιώνας του Νομού Θεσσαλονίκης τις πρώτες πρωινές ώρες και κατά το χρονικό διάστημα από τον Αύγουστο μέχρι τον Οκτώβριο του 2009. Η διάγνωση της μόλυνσης για κάθε ψάρι έγινε με τη μέθοδο της τεχνητής πέψης. Σύμφωνα με αυτή, τα ποσοστά μόλυνσης των ιχθύων ήταν 6,25%. Τα είδη ψαριών που εξετάστηκαν, συνολικά ογδόντα, ήταν τα εξής : Γαύρος (*Engraulis Encrasicolus*), Γόπα (*Boops boops*), Κολιός (*Scomber Japonicus Colias*), Γωβιός (*Gobius niger*), Κοκκάλι (*Caranx hippos*), Κουτσομούρα (*Mullus barbatus*), Λιθρίνι (*Pagellus erithrinus*), Μπακαλιάρος (*Merlucius merlucius*), Σαρδέλα (*Sardina pilchardus*), Φρίσσα (*Sardinella aurita*), Μαρίδα (*Spicara smaris*), Σαυρίδι (*Trachurus Trachurus*) και βρέθηκαν μολυσμένα τα *Merlucius merlucius* και *Scomber Japonicus Colias*. Στα ψάρια βρέθηκαν από δύο μέχρι δέκα εννέα προνύμφες του παρασίτου/ψάρι τόσο στην σάρκα όσο και στο έντερο. Επίσης, μελετήθηκαν μορφολογικά οι προνύμφες που ανευρέθηκαν στα διάφορα είδη και ταυτοποιήθηκαν όλες ως *Anisakis spp* Τύπου I.

ABSTRACT

This study was carried out in order to study the epidemiology of the genus *Anisakis spp.* in commercial seawater fish in the region around the prefecture of Thessaloniki.

The present dissertation is divided into two parts.

The first part contains a review of the literature concerning the parasite, its life cycle and the disease caused by it.

The second part describes our own research, in which the prevalence of the infection was investigated using the method of digestion. According to this method the prevalence of infection was found to be 6,25% in fishes. The species that were examined were *Engraulis Encrasicolus*, *Boops boops*, *Scomber Japonicus Colias*, *Gobius niger*, *Caranx hippos*, *Mullus barbatus*, *Pagellus erithrinus*, *Merluccius merluccius*, *Sardina pilchardus*, *Sardinella aurita*, *Spicara smaris*, *Trachurus Trachurus* and found to be infected the species *Merluccius merluccius* and *Scomber Japonicus Colias*. The parasitic burden found was from two to nineteen larvae per fish -in the flesh and the intestine- and were all morphologically identified as *Anisakis type I*.

Ευχαριστίες

Ο σχεδιασμός και η εκτέλεση της πτυχιακής δε θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί χωρίς τη βοήθεια και τη στήριξη της Επιβλέπουσας Ερευνήτριας Δρ Σωτηράκη Σμαράγδας, στην οποία και εκφράζω τις θερμές μου ευχαριστίες.

Ευχαριστίες απευθύνω και στο άλλο μέλος της συμβουλευτικής επιτροπής, την Καθηγήτρια και σημερινή Πρόεδρο της Κτηνιατρικής Σχολής Καρδίτσας, την Καθηγήτρια κα. Φωτεινή Αθανασοπούλου.

Επίσης ευχαριστώ θερμά όλο το προσωπικό του ΙΚΕΘ-ΕΘΙΑΓΕ για την υποστήριξη που μου προσέφεραν σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της πτυχιακής. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ. Γ. Σαββίδη και τον Γ. Βαφέα για τη βοήθεια στην αναγνώριση των ειδών των ψαριών καθώς και τους συναδέλφους κτηνιάτρους της Διεύθυνσης Κτηνιατρικής Θεσσαλονίκης για τη βοήθεια που μου προσέφεραν κατά τη διάρκεια συλλογής των δειγμάτων.

Περιεχόμενα	Σελίδα
Περίληψη.....	4
Ευχαριστίες.....	6
Κεφάλαιο 1^ο : Γενική βιβλιογραφική ανασκόπηση	9
Εισαγωγή	10
Γενικό μέρος	11
<i>Anisakis spp.</i>	
1. Παρουσίαση του παρασίτου.....	12
Κατάταξη και συνώνυμα.....	12
Βιολογία.....	13
2.	Βιολογικός
κύκλος του παρασίτου.....	15
Ανισακίδωση.....	18
Η ανισακίδωση στους τελικούς ξενιστές.....	18
Η ανισακίδωση στους ενδιάμεσους/ παρατενικούς ξενιστές.....	19
Η ανισακίδωση στον άνθρωπο.....	21
Κλινικά περιστατικά σε ανθρώπους.....	24
Διάγνωση.....	25
Πρόληψη.....	27
Περιοχή έρευνας.....	27
Κεφάλαιο 2^ο : Η παρούσα έρευνα.....	29
Ειδικό μέρος	30
Υλικά και Μέθοδοι.....	30
Κεφάλαιο 3^ο : Αποτελέσματα.....	35

Αποτελέσματα.....	36
Κεφάλαιο 4^ο : Συζήτηση.....	45
Συζήτηση.....	46
Βιβλιογραφία	49

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

ΓΕΝΙΚΗ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Εισαγωγή

Η ανισακίδωση αναφέρεται στην προσβολή των ζώων και του ανθρώπου από τα νηματώδη παράσιτα που ανήκουν στις οικογένειες των Anisakidae ή Raphidascarididae. Η παρασίτωση αυτή αφορά α) τον παρασιτισμό των θαλάσσιων θηλαστικών και των ιχθυοφάγων πτηνών από τα ενήλικα παράσιτα που εντοπίζονται στον γαστρεντερικό τους σωλήνα και β) τον παρασιτισμό διαφόρων ιχθύων αλλά και του ανθρώπου από τις προνύμφες των νηματωδών αυτών που εντοπίζονται επίσης στο γαστρεντερικό σωλήνα καθώς και στο μυϊκό ιστό (Rello *et al.*, 2009).

Η σημασία της παρασίτωσης αυτής, έγκειται κυρίως στις σοβαρές αλλεργικές αντιδράσεις και στα συμπτώματα από το γαστρεντερικό σωλήνα που προκαλεί η μόλυνση από τα προνυμφικά στάδια των νηματωδών αυτών στον άνθρωπο (Ritter, 2001). Από τη διεθνή βιβλιογραφία δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα που να αναφέρουν την εκδήλωση νοσήματος στα υπόλοιπα είδη ξενιστών τους. Σημαντικές ωστόσο είναι οι οικονομικές επιπτώσεις, καθώς τα ψάρια αυτά είναι αισθητικά μη αποδεκτά από τον καταναλωτή με αποτέλεσμα την απόρριψή τους κατά τον έλεγχο (Williams & Jones, 1994).

Η ανισακίδωση αναγνωρίζεται ως σοβαρός κίνδυνος για την δημόσια υγεία σε πολλές χώρες και ιδιαίτερα στην Ιαπωνία, όπου πάνω από δύο χιλιάδες περιπτώσεις παρασιτισμού του ανθρώπου αναφέρονται ετησίως, αποτελώντας το 95% των περιστατικών παγκοσμίως (Takabe *et al.*, 1998, Rosales *et al.*, 1999).

Ο άνθρωπος προσβάλλεται από προνύμφες όλων των ειδών της οικογένειας Anisakidae και Raphidascarididae, και σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία πιο συχνά από τα γένη *Anisakis* και *Pseudoterranova* και σε μικρότερο βαθμό από τα γένη *Hysterothylacium* και *Contracaecum* (Beaver *et al.*, 1984, Smith and Wooten, 1987, Bouree *et al.*, 1995). Ειδικότερα, το πιο συχνά εμπλεκόμενο είδος στην μόλυνση του ανθρώπου είναι το *Anisakis simplex*, λιγότερο συχνό είναι το *Pseudoterranova decipiens*, ενώ μόνο λίγα περιστατικά προσβολής από *Anisakis physeteris* και *Contracaecum spp.* έχουν καταγραφεί (Audicana & Kennedy, 2008).

Στην Ελλάδα, σύμφωνα με τον Παπουτσόγλου (1975), το παράσιτο έχει βρεθεί στα είδη χειλού η πρασίνη (*Labrus Turdus*), σε κολιούς (*Scomber Japonicus Colias*), στο καπόνι (*Trigle Lucerna*), στη ζαργάνα (*Belone Belone*), στο κοκκάλι (*Caranx hippos*), και στο σπάρο (*Diplodus Annularis*) στο Σαρωνικό κόλπο, καθώς και σε γόπες (*Boops boops*) και κολιούς (*Scomber japonicus colias*) στην περιοχή της Θεσσαλονίκης (Sotiraki *et al.*, 2001). Στην Ελλάδα, ή έλλειψη επίσημα δημοσιευμένων περιστατικών σε ότι αφορά τη μόλυνση του ανθρώπου, έχει οδηγήσει στο συμπέρασμα πως η ανισακίδωση δεν αποτελεί σημαντικό πρόβλημα. Το παραπάνω πιθανά οφείλεται στις διατροφικές συνήθειες των Ελλήνων και στον τρόπο μαγειρέματος των θαλασσινών καθώς και στη μη διάγνωση περιστατικών εξαιτίας της απουσίας ειδικών συμπτωμάτων.

Ωστόσο, εξαιτίας του σύγχρονου τρόπου ζωής και της διάδοσης διαφορετικών συνηθειών κατανάλωσης ιχθύων και στην χώρα μας, υπάρχει ο κίνδυνος το πρόβλημα της ανισακίδωσης να ανακύψει. Σκοπός λοιπόν της πειραματικής αυτής έρευνας ήταν η διερεύνηση της παρουσίας των νηματωδών παρασίτων του γένους *Anisakis* σε ψάρια στον Ελλαδικό χώρο και στόχος η γνώση της εξάπλωσης της παρασίτωσης αυτή για τη προστασία της δημόσιας υγείας.

Η πτυχιακή εργασία χωρίζεται σε δύο μέρη, το γενικό και το ειδικό. Στο πρώτο μέρος γίνεται βιβλιογραφική ανασκόπηση σε ότι αφορά τη μορφολογία, τη βιολογία και το νόσημα, που προκαλεί το παράσιτο. Στο δεύτερο μέρος παρουσιάζεται η δική μας έρευνα. Αρχικά, μελετάται η επιζωοτιολογία του παρασίτου στους ενδιάμεσους ξενιστές και μετά περιγράφονται τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν, οι μέθοδοι που εφαρμόστηκαν, αναλύονται και συζητούνται τα αποτελέσματα και εξάγονται συμπεράσματα.

Η έρευνα αυτή έγινε στο Εργαστήριο Παρασιτολογίας και Παρασιτικών Νοσημάτων του Ινστιτούτου Κτηνιατρικών Ερευνών Θεσσαλονίκης - Εθνικό Ινστιτούτο Αγροτικών Ερευνών Ελλάδας (ΙΚΕΘ-ΕΘΙΑΓΕ).

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Anisakis spp.

1. Παρουσίαση του παρασίτου

Κατάταξη και συνώνυμα

Η ζωολογική κατάταξη του *Anisakis* sp. (Rudolphi, 1809) είναι η εξής :

Βασίλειο : Animalia

Φύλο : Nematoda

Κλάση : Secernentea

Τάξη : Ascaridida

Υπεροικογένεια : Ascaridoidea

Οικογένεια : Anisakidae

Γένος : *Anisakis* (Dujardin, 1845)

Είδη : Υπάρχουν δύο κύριες ομάδες,

Anisakis Τύπου I και *Anisakis* Τύπου II

Στις προνύμφες Τύπου I ανήκουν τα παρακάτω είδη (7) :

A. pegreffii

A. simplex C

A. schupakovi

A. simplex (*sens stricto*)

A. typica

A. ziphidarum

Anisakis sp.

Στις προνύμφες Τύπου ΙΙ ανήκουν τα παρακάτω είδη (3) :

A.physeteris

A.paggiae

A.brevispiculata

Βιολογία *Anisakis* spp.

1) Παρουσίαση παρασίτου

Γεωγραφική εξάπλωση

Τα παράσιτα του γένους *Anisakis* έχουν ένα ευρύ φάσμα ξενιστών σε όλο το βιολογικό τους κύκλο και εξίσου μεγάλη γεωγραφική εξάπλωση. Τα παράσιτα αυτά, συναντώνται σε καρκινοειδή, καλαμάρια, ψάρια και θαλάσσια θηλαστικά από τις τροπικές μέχρι τις αρκτικές και ανταρκτικές περιοχές (Bullini, 1997, Oliva, 1999). Πιο συγκεκριμένα το *A.simplex* sensu stricto εντοπίζεται στον Βόρειο Ατλαντικό και Βόρειο Ειρηνικό Ωκεανό, τα *A. pegreffii*, *A.physeteris* και *A. ziphidarum* συναντώνται στη Μεσόγειο Θάλασσα και στο Νότιο Ατλαντικό Ωκεανό, το *Anisakis simplex* C στο Νότιο Ατλαντικό και Βόρειο Ειρηνικό Ωκεανό και το *Anisakis* spp. Α στις ακτές της Μαδέϊρας και της Γαλικίας. Ακόμα, το *A. typica* το βρίσκουμε στα ζεστά και τροπικά νερά του Ατλαντικού και του Ινδικού Ωκεανού και στην Ανατολική Μεσόγειο Θάλασσα, ενώ το *A. brevispiculata* απαντάται επίσης στην Μεσόγειο Θάλασσα και στον Κεντρικό Ατλαντικό Ωκεανό, όπως και το *A. paggiae*. Τέλος, το *A. schurakovi*, είναι ενδημικό στην Κασπία Θάλασσα.

Εντόπιση

Τα ενήλικα παράσιτα εντοπίζονται στο γαστρεντερικό σωλήνα των θαλάσσιων θηλαστικών και ιχθυοφάγων πτηνών. Μετά την πρόσληψη των μολυσμένων ιχθύων από τους τελικούς ξενιστές και την πέψη αυτών, οι τρίτου σταδίου προνύμφες του παρασίτου ελευθερώνονται στον στόμαχο, όπου ακολουθεί η εξέλιξή τους σε τετάρτου σταδίου, η ενηλικίωση και η σύζευξή τους. Τα αυγά απομακρύνονται με τα κόπρανα στο περιβάλλον (Chai *et al.*, 2005).



Διατροφή

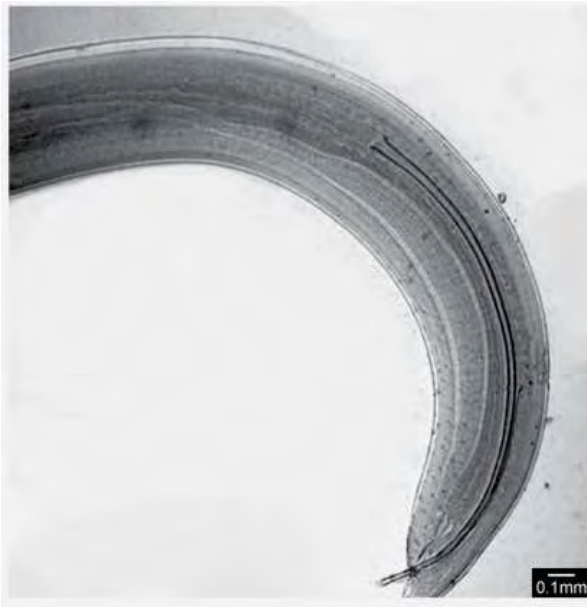
Όπως όλες οι ασκαρίδες, τα *Anisakis* ως ενήλικα τρέφονται με το περιεχόμενο του εντέρου ή με τμήματα του βλεννογόνου του εντέρου του τελικού ξενιστή (Barnes, 1987, Brusca & Brusca, 2003, Roberts & Janovy, 2000).

Μορφολογία

Τα παράσιτα αυτά ανήκουν στα νηματώδη (Nematoda), έχουν σχήμα σκοληκοειδές, κυκλικό σε κάθε τομή με έλλειψη αυλακώσεων, σωματική κοιλότητα και ολοκληρωμένο πεπτικό σύστημα. Το σώμα τους είναι καλυμμένο από το επιδερματίδιο, που είναι μια λεπτή, χωρίς κύτταρα

μεμβράνη και αποτελείται από τρία στρώματα, το φλοιώδες, το μέσο, και το βασικό στρώμα. Το επιδερματίδιο εκκρίνεται από την υποδερμίδα, που συνήθως είναι ραβδωτή. Η σωματική ψευδοκοιλότητα περιέχει υγρό και διατηρεί σταθερό το σχήμα του παρασίτου λειτουργώντας ως ένας υδροστατικός σκελετός. Το μυϊκό στρώμα αποτελείται από μυϊκά κύτταρα που είναι διατεταγμένα κατά μήκος. Η κίνηση του παρασίτου πραγματοποιείται με την σύσπαση και χαλάρωση των κυττάρων αυτών. Το μέσο μήκος σώματος ενός ενήλικου ατόμου είναι περίπου ένα εκατοστό και διαφέρει ανάλογα με τον τελικό ξενιστή. Για παράδειγμα, σύμφωνα με τους Ugland *et al.* (2004) το μήκος των θηλυκών *Anisakis simplex* ήταν 126 mm σε φάλαινες του γένους *Balaenoptera*, 71 mm στο είδος *Phocoena phocoena* και 73 mm σε φάλαινες του γένους *Globicephala*, ενώ τα αρσενικά ήταν 106 mm, 57 mm και 68 mm αντίστοιχα (εικόνα 1). Το στόμα εντοπίζεται στο πρόσθιο τμήμα και περιβάλλεται από σχηματισμούς που χρησιμεύουν στη θρέψη και στην αίσθηση (χείλη, θηλής). Το πρόσθιο άκρο των χειλέων εμφανίζει μεσαίες προεξοχές που σχηματίζουν δύο λοβούς. Η στοματική κοιλότητα είναι ελαφρώς κερατινοποιημένη και περιβάλλεται από οισοφαγικό ιστό. Ο οισοφάγος χωρίζεται στο κυρίως σώμα και σε μία οπίσθια διόγκωση (posterior ventriculus).

Τα εντερικά τυφλά απουσιάζουν. Το οπίσθιο άκρο των αρσενικών στερείται καλώς ανεπτυγμένων ουραίων πτερυγίων και εμφανίζει δύο σμήριγγες οχείας ίσες ή άνισες σε μέγεθος (εικόνα 2).



Εικόνα 2 : Ενήλικο αρσενικό παράσιτο *Anisakis typica*

2) Βιολογικός κύκλος του παρασίτου.

Ο βιολογικός κύκλος του παρασίτου είναι έμμεσος. Τελικός ξενιστής είναι πολλά θαλάσσια θηλαστικά, όπως δελφίνια, φάλαινες και άλλα κητώδη καθώς και ιχθυοφάγα πτηνά (Anderson, 1992). Ενδιάμεσοι ξενιστές είναι τα καρκινοειδή και ειδικότερα τα Euphausiacea, τα κωπήποδα, δεκάποδα ή αμφίποδα (α' ενδιάμεσοι ξενιστές). Ο άνθρωπος και διάφορα είδη ιχθύων χρησιμεύουν ως παρατενικοί ξενιστές.

Τα ενήλικα *Anisakis spp* βρίσκονται στο γαστρεντερικό σωλήνα των τελικών ξενιστών τους και είναι ωοτόκα. Τα αυγά απομακρύνονται με τα κόπρανα στη θάλασσα μέσα στα οποία εξελίσσονται σε προνύμφες δευτέρου σταδίου, που εκκολάπτονται και εξέρχονται στο εξωτερικό περιβάλλον. Οι προνύμφες στο στάδιο αυτό είναι ευαίσθητες και η επιβίωση τους εξαρτάται από την άμεση εύρεση του κατάλληλου ξενιστή.

Τα καρκινοειδή, α' ενδιάμεσοι ξενιστές μολύνονται από την βρώση των προνυμφών αυτών. Από αυτά, τα πιο σημαντικά στη διάδοση του παρασίτου είναι αυτά που ανήκουν στην τάξη των Euphausiacea (Crustacea, Malacostraca, Eucarida). Οι προνύμφες εντοπίζονται στην αιμοκοιλία των καρκινοειδών όπου και εξελίσσονται σε γ' σταδίου προνύμφες.

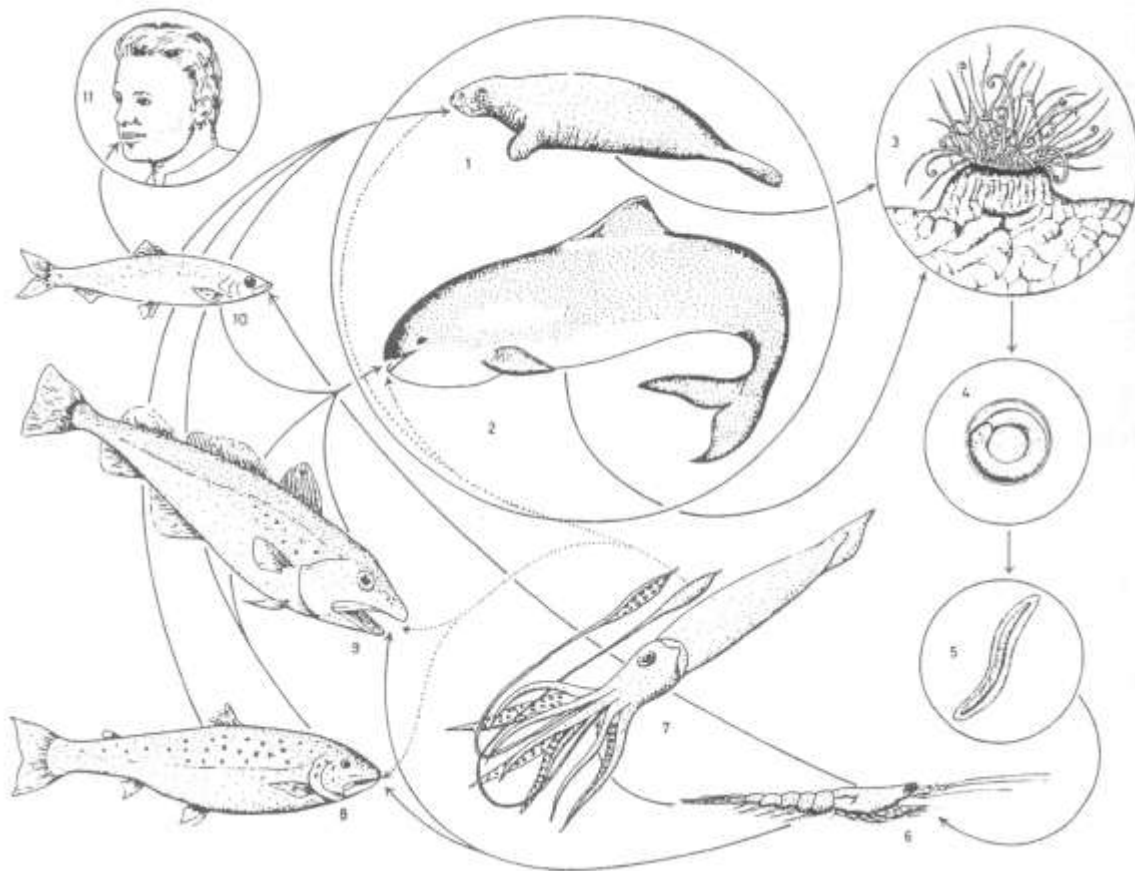


Εικόνα 3: Καρκινοειδές (www.en.wikipedia.org/wiki/Krill)

Παρότι ο παραπάνω αναφερόμενος βιολογικός κύκλος είναι ευρέως αποδεκτός, υπάρχουν έρευνες που υποστηρίζουν ότι από τα αυγά *Anisakis* εκκολάπτεται η τρίτου σταδίου προνύμφη, η οποία στη συνέχεια μολύνει τα καρκινοειδή χωρίς περαιτέρω εξέλιξη σε αυτά (ψευδοξενιστής), (Køie *et al.*, 1995, Podolska, 1995, Roberts & Janovy, 2000, Smith, 1983).

Στη συνέχεια τα ψάρια και τα κεφαλόποδα, μολύνονται τρώγοντας τα μολυσμένα καρκινοειδή, που περιέχουν τις L3 προνύμφες. Επειδή τα παράσιτα αυτά δεν υπόκεινται σε περαιτέρω εξέλιξη μέσα σε αυτά, οι τελευταίοι χαρακτηρίζονται ως παρατενικοί ξενιστές. Σε αυτούς τους ξενιστές οι L3 προνύμφες αφού διατρυπήσουν το εντερικό τοίχωμα εγκυστώνονται συνήθως εξωτερικά των σπλαχνικών οργάνων ή στο μυϊκό ιστό ή ακόμη και κάτω από το δέρμα του ξενιστή, όπου συνεχίζουν να αναπτύσσονται. Στο στάδιο όπου μολύνουν τους ιχθύες, οι προνύμφες *Anisakis* εμφανίζουν ένα χαρακτηριστικό σπειροειδές σχήμα (Anderson, 1992).

Οι τελικοί ξενιστές συνήθως μολύνονται τρώγοντας καρκινοειδή, ψάρια ή κεφαλόποδα που περιέχουν τις προνύμφες τρίτου σταδίου, στο στόμαχο των οποίων εξελίσσονται σε τετάρτου σταδίου προνύμφες (L4) και αργότερα σε ώριμα ενήλικα άτομα.



Εικόνα 4 : Βιολογικός κύκλος *Anisakis spp.* (Williams and Jones, 1994)

ΑΝΙΣΑΚΙΔΩΣΗ

Η ανισακίδωση είναι η παρασίτωση των θαλάσσιων θηλαστικών και των ιχθυοφάγων πτηνών, που αποτελούν τους τελικούς ξενιστές, καθώς και των καρκινοειδών, των ψαριών και του ανθρώπου, που αποτελούν τους ενδιάμεσους ξενιστές, από τα ενήλικα ή τις προνύμφες αντίστοιχα των παρασίτων του γένους *Anisakis*.

Η ΑΝΙΣΑΚΙΔΩΣΗ ΣΤΟΥΣ ΤΕΛΙΚΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ

Στους τελικούς ξενιστές του παρασίτου συγκαταλέγονται τα θαλάσσια θηλαστικά, όπως για παράδειγμα οι θαλάσσιοι ελέφαντες, οι φώκιες, τα δελφίνια και οι φάλαινες, καθώς και τα ιχθυοφάγα και παμφάγα πτηνά.

Η σημασία της παρασίτωσης αυτής δεν είναι πλήρως εξακριβωμένη, αφού δεν υπάρχουν συγκεκριμένα δεδομένα από τη διεθνή βιβλιογραφία για την περιγραφή κλινικής νόσου παρά μόνο αναφορές ανεύρεσης των παρασίτων κατά τη νεκροψία διαφόρων ειδών τελικών ξενιστών.

Συγκεκριμένα, σε επιδημιολογική μελέτη που έγινε στη Βαλτική θάλασσα, σε είκοσι-οκτώ κορμοράνους του είδους *P. carbo sinensis*, βρέθηκε ότι το 18% αυτών ήταν μολυσμένοι συνολικά με δεκαεννέα προνύμφες γ' σταδίου του είδους *Anisakis simplex*. Οι δεκαέξι από αυτές βρέθηκαν στο στομάχι τεσσάρων κορμοράνων, ενώ οι υπόλοιπες στο έντερο ενός εξ αυτών (Kanarek *et al.*, 2006). Το ίδιο είδος παρασίτου έχει καταγραφεί επίσης, στα είδη *Fulmarus glacialis* στη Μεγάλη Βρετανία και στην Ισλανδία (Riley 1972, Olsadottir *et al.* 1996), *Larus canus* στη Νορβηγία (Bakke and Barus 1975), *Fratercula arctica* (Olsadottir *et al.* 1996), και *Uria lomvia* στην Ισλανδία (Olsadottir *et al.* 1996, Kuklin 2001). Γενικότερα, στα πτηνά αυτά έχουν βρεθεί ως επί το πλείστον προνύμφες γ' και σπανιότερα δ' σταδίου και ενήλικα άτομα (Bakke & Barus 1975, Riley 1972, Olsadottir *et al.* 1996, Kanarek *et al.*, 2006).

Σε έρευνα που έγινε στην Γαλικία της Ισπανίας, αναφέρθηκε η παρουσία είκοσι τριών ενηλίκων ατόμων και δύο προνυμφών δ' σταδίου *Anisakis sp.* στο στομάχι του είδους της φάλαινας *Mesoplodon densirostris* (Iglesias *et al.*, 2008), ενώ στις Βορειοανατολικές ακτές της

Βραζιλίας, σε μία άλλη φάλαινα του είδους *Kogia breviceps* βρέθηκαν δώδεκα ενήλικα άτομα *A. Physeteris* (Santos & Lodi, 1998).

Η ΑΝΙΣΑΚΙΔΩΣΗ ΣΤΟΥΣ ΕΝΔΙΑΜΕΣΟΥΣ/ΠΑΡΑΤΕΝΙΚΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ.

Σε ότι αφορά τη παρασίτωση των ενδιάμεσων/παρατενικών ξενιστών, κλινικό νόσημα έχει περιγραφεί μόνο στον άνθρωπο, ενώ για τα υπόλοιπα ζωικά είδη όπως για παράδειγμα τα διάφορα είδη ψαριών φαίνεται να είναι άνευ σημασίας.

Η διασπορά και η γεωγραφική εξάπλωση της μόλυνσης στο περιβάλλον είναι μεγάλη και ενδεικτικά αναφέρεται ότι σε έρευνα που έγινε στην Κίνα, βρέθηκαν 5.992 προνύμφες του γένους *Anisakis* σε 121 (63,4%) ψάρια από δεκαπέντε διαφορετικά είδη και σε οκτώ καλαμάρια ενός είδους (Hong-Wei *et al.*, 1997).

Στην Ιαπωνία, συγκριτικές μελέτες των τελευταίων χρόνων έδειξαν μια ασυνήθιστη αύξηση του επιπέδου μόλυνσης από προνύμφες *A. Simplex* σε ενήλικα ψάρια του είδους *Oncorhynchus keta*. Συγκεκριμένα, ενώ το 2001 το μέσο φορτίο προνυμφών ήταν μικρότερο από 20/ψάρι, το 2006 το μέσο φορτίο ήταν 160 παράσιτα για κάθε ψάρι (Urawa *et al.*, 2006).

Στο Βόρειο Ατλαντικό σε ψάρια που προορίζονταν για ανθρώπινη κατανάλωση, τα ποσοστά προσβολής κυμαίνονταν ανάλογα του μεγέθους τους από 15-60% στο είδος *Clupea harengus*, 32-77% στο είδος *Micromesistius poutassou* και 89-100% στο είδος *Scomber scombrus* (Levsen *et al.*, 2005), ενώ σε προγενέστερες έρευνες στην περιοχή η μόλυνση σε ψάρια του είδους *Gadus morhua L.* από το *A. simplex* έφτασε το 96% (Aspholm, 1994).

Σε 42 άτομα του είδους *Merluccius hubbsi* στην Αργεντινή, το ποσοστό προσβολής από προνύμφες *Anisakis spp* είναι 52,4% (Herreras *et al.*, 2000).

Όσον αφορά τη περιοχή της Μεσογείου, τα τελευταία χρόνια έγιναν πολλές επιδημιολογικές έρευνες στην Ισπανία, στην Ιταλία και στην Πορτογαλία. Στην Ισπανία συγκεκριμένα, το ποσοστό μόλυνσης από προνύμφες *Anisakis type I* σε 139 άτομα του είδους *Trisopterus luscus*, ήταν 22% (Rello *et al.*, 2008), σε 792 άτομα του είδους *E. encrasicolus* ήταν 9% (Rello *et al.*, 2009), και σε 301 άτομα του είδους *Micromesistius potassou* 11% (Valero *et al.*, 2000). Σε παρόμοιες έρευνες στην περιοχή, στο είδος *Phycis phycis* τα ποσοστά μόλυνσης

από *Anisakis simplex* και *Anisakis physeteris* ήταν αντίστοιχα 1,72% και 2,39%, ενώ για το είδος *Phycis blennoides*, η μόλυνση ήταν 3,45% και 11% (Valero *et al.*, 2005). Επίσης αναφέρεται ότι

η μόλυνση από το συγκεκριμένο παράσιτο ήταν από 5,6% σε γαύρους έως 27,5% σε μπακαλιάρους (de la Torre Molina *et al.*, 2000).

Στην Ιταλία, σε έρευνα που έγινε στο είδος *Dicentrarchus labrax* τα ποσοστά μόλυνσης κυμαινόταν από 65,27% για τα άτομα βάρους 1-2kg έως 85% για εκείνα που ζύγιζαν 2-3kg.

Στο Βέλγιο, σε έρευνα στην αγορά της χώρας, βρέθηκε το παράσιτο αυτό σε φιλέτα εφτά ειδών ψαριών. Το *Anisakis simplex* ήταν το πιο συνηθισμένο είδος (ποσοστό μόλυνσης 84,5%) και βρέθηκε στο 11% των εξεταζόμενων φιλέτων (Piccolo *et al.*, 1999).

Αντίστοιχα σε έρευνα στην ευρύτερη περιοχή του Παρισιού, που αφορούσε 10 είδη ψαριών τα ποσοστά μόλυνσης από *Anisakis simplex* στα είδη *Clupea harengus*, *Sebastes marinus* και *Merluccius merluccius* ήταν αντίστοιχα 82,55%, 86,11% και 88,57% (Huang, 1988).

Στις Βόρειο-αφρικάνικες ακτές της Μεσογείου (Αλγερία, Λιβύη και Τυνησία) η έρευνα έδειξε προσβολή 13 ειδών ιχθύων από προνύμφες *Anisakis spp.* Τα ποσοστά μόλυνσης ήταν 93,62% για τις προνύμφες Τύπου I και 6,38% για τις Τύπου II (Farjallah *et al.*, 2008).

Η μόλυνση ψαριών εκτροφής φαίνεται ότι είναι σαφώς μικρότερης σημασίας. Για παράδειγμα, παρά το γεγονός ότι προνυμφικές μορφές του παρασίτου έχουν βρεθεί σε ποσοστό ως και 100% σε άγριους σολομούς (Deardorf & Kent, 1989, Bristow & Berland, 1991, Angot & Brasseur, 1993), μέχρι τώρα δεν έχουν καταγραφεί αντίστοιχες συχνότητες σε εκτρεφόμενους σολομούς (*Salmo salar*), (Deardorf & Kent, 1989, Bristow & Berland, 1991, Angot & Brasseur, 1993, Inoue *et al.*, 2000, Lunestad, 2003), εκτός μία αναφορά μόλυνσης ενός σολομού, από μία προνυμφική μορφή, σε σύνολο 895 ατόμων που εξετάστηκαν (Marty, 2008).

Η ΑΝΙΣΑΚΙΔΩΣΗ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ

Η ανισακίδωση στον άνθρωπο εμφανίζεται μετά από κατανάλωση ωμού, ατελώς ψημένου, καπνιστού ή μαριναρισμένου κρέατος ψαριών και κεφαλόποδων μολυσμένου με γ' σταδίου προνύμφες του παρασίτου. Είναι σοβαρή ζωοανθρωπονόσος και τις τελευταίες δεκαετίες έχει παρατηρηθεί μια σημαντική αύξηση των περιστατικών τόσο στις Ηνωμένες Πολιτείες όσο και σε πολλές Ευρωπαϊκές χώρες, όπως για παράδειγμα στη Γαλλία, την Ιταλία, την Ισπανία, την Ολλανδία και το Ηνωμένο Βασίλειο (Chai *et al.*, 2005). Η πιθανότερη εξήγηση για την αύξηση αυτή είναι η αλλαγή των διατροφικών συνήθειων του ανθρώπου και συγκεκριμένα η στροφή προς την κατανάλωση γευμάτων ωμών ψαριών, όπως είναι το Ιαπωνικό sushi και sashimi, το Σκανδιναβικό gravlax, το Φιλιπινέζικο bagoong, τα Χαβανέζικα lomi-lomi και palu, οι αλίπαστες ή καπνιστές σαρδέλες της Ολλανδίας και οι ξυδάτες αντζούγιες της Ισπανίας. Ένας άλλος λόγος διάδοσης της παρασίτωσης αυτής είναι και το παγκόσμιο εμπόριο θαλασσινών φαγητών που μπορεί να οδηγήσει στη μετάδοση των μολύνσεων αυτών σε απομακρυσμένες γεωγραφικά περιοχές (Fumarola *et al.*, 2009). Πέρα όμως από τους καταναλωτές, υπάρχει και μια άλλη κατηγορία πληθυσμού, αυτή των ψαράδων, οι οποίοι κινδυνεύουν να αναπτύξουν ανισακίδωση κατά τον χειρισμό των μολυσμένων ψαριών και καρκινοειδών, καθώς και άσθμα, το οποίο προκαλείται από τη εισπνοή αντιγόνων του *Anisakis simplex* (Purello-D'Ambrosio *et al.*, 2000).

Συνολικά, από όσα περιστατικά παρασίτωσης έχουν περιγραφεί παγκοσμίως, το 97% οφείλεται στο *A. simplex* και το υπόλοιπο 3% στις προνύμφες του γένους *Pseudoterranova* (Chai *et al.*, 2005). Ο παρασιτισμός από τις προνύμφες του *A. physeteris* (Kagei *et al.*, 1978, Asato *et al.*, 1991, Clavel *et al.*, 1993) και από τις προνύμφες του *Contracaecum* (Ishikura *et al.*, 1993) έχει επιβεβαιωθεί σε πολύ λίγες περιπτώσεις.

Ο άνθρωπος αποτελεί παρατενικό ξενιστή στον κύκλο του παρασίτου, στον οργανισμό του οποίου οι προνύμφες κατά κανόνα δεν εξελίσσονται στο επόμενο στάδιο, παρόλο που οι

συνθήκες είναι ευνοϊκές, καθώς το εντερικό του σύστημα είναι λειτουργικά παραπλήσιο με αυτό των θαλάσσιων θηλαστικών. Ωστόσο, υπάρχουν επιβεβαιωμένες αναφορές πως προνύμφες L3 εξελίχθηκαν σε L4 μέσα στον ανθρώπινο γαστρεντερικό σωλήνα (Kagei *et al.*, 1978, Clavel *et al* 1993). Σύμφωνα με τον Fujino *et al.* (1984) η εξέλιξη σε L4 γίνεται μέσα σε 3-4 ημέρες μετά την

πρόσληψη της προνύμφης, κάτι που έχει επιβεβαιωθεί και από πειράματα που έλαβαν χώρα σε θαλάσσια θηλαστικά (Weerasooriya *et al* 1986). Οι προνύμφες δύναται να διεισδύσουν στο γαστρεντερικό σωλήνα και να εισβάλλουν σε γειτονικά όργανα, προκαλώντας πολλά παθολογικά προβλήματα ή να παραμείνουν στο γαστρεντερικό σωλήνα χωρίς να εισχωρήσουν στους ιστούς προκαλώντας ασυμπτωματική μόλυνση. Στην πρώτη περίπτωση, οι προνύμφες διεισδύουν στο γαστρικό ή στον εντερικό βλεννογόνο, ή πιο σπάνια σε άλλα σημεία, όπως είναι ο λαιμός, οπότε ο ασθενής αισθάνεται ερεθισμό (που παρομοιάζει με τσούξιμο ή γαργαλητό), με αποτέλεσμα να βήχει και τελικά να αποβάλλει το παράσιτο (Chai *et al.*, 2005). Σύμφωνα με τον Ishikura (1991), κατά την μελέτη 15.715 περιστατικών ανισακίδωσης, το 95,6% αυτών ήταν γαστρικής μορφής, το 4,1% εντερικής και μόνο το 0,3% αφορούσε άλλες περιοχές του σώματος.

Η ανισακίδωση, μπορεί να καταταχθεί ανάλογα με το προσβεβλημένο όργανο σε γαστρική ή εντερική ανισακίδωση. Η γαστρική μορφή εκδηλώνεται κάποιες ώρες μετά την κατανάλωση ωμών ψαριών, συνήθως 1-8 ώρες. Οι ασθενείς με τη γαστρική ανισακίδωση παρουσιάζουν ξαφνικό και έντονο κοιλιακό πόνο στο επιγάστριο, αιματηρό έμετο, μετεωρισμό, ναυτία, πόνο στο στήθος, ακόμα και αλλαγές στον εντερικό ρυθμό, στην περίπτωση που εμπλέκεται και το λεπτό έντερο. Η διάγνωση και η θεραπεία γίνεται με γαστροοισοφαγική ενδοσκόπηση (Ishida *et al.*, 2007).

Άλλα παθολογικά ευρήματα που εντοπίζονται με την ενδοσκόπηση είναι οίδημα, εξελκώσεις, ερύθημα και/ή διάβρωση του βλεννογόνου (Ohtaki & Ohtaki, 1988, Yazaki & Namiki, 1988, Kakizoe *et al.*, 1995). Στις περιπτώσεις αυτές η θεραπεία που ενδείκνυται είναι η αφαίρεση της προνύμφης με τις λαβίδες βιοψίας και τα αποτελέσματα είναι άμεσα με το σοβαρό γαστρικό πόνο να εξαφανίζεται γρήγορα, η κατάσταση των ασθενών να βελτιώνεται αμέσως και να τους δίνεται εξιτήριο αφού τους χορηγηθεί υποστηρικτική αγωγή (Sugimachi *et al.*, 1985).

Τα περισσότερα περιστατικά αφορούν τη μόλυνση από μία προνύμφη (Kim *et al.*, 1991), ωστόσο υπάρχουν και άλλα, όπου η προσβολή είναι πολλαπλή, όπως για παράδειγμα σε δύο

περιπτώσεις στην Κορέα, όπου αφαιρέθηκαν πέντε προνύμφες από το γαστρικό βλεννογόνο ενός ασθενούς (Noh *et al.*, 2003), ενώ στην άλλη αφαιρέθηκαν δύο προνύμφες από τον ασθενή (Choi *et al.*, 1989). Ακριβώς επειδή οι περισσότερες μολύνσεις αφορούν μία προνύμφη μόνο, η ενδοσκοπική αφαίρεση της προνύμφης αυτής από το τοίχωμα είναι συνήθως θεραπευτική χωρίς να απαιτείται περαιτέρω αγωγή.

Όσον αφορά την εντερική ανισακίδωση, αυτή εμφανίζεται με κοιλιακό πόνο που ποικίλλει σε σοβαρότητα και σπανιότερα με εντερική απόφραξη, ενώ εκδηλώνεται μέσα σε λίγες μέρες μετά την πρόσληψη της προνύμφης.

Επειδή οι προνύμφες *Anisakis* πεθαίνουν με το πέρασμα του χρόνου, η εντερική μορφή αντιμετωπίζεται με συντηρητική αγωγή (Sasaki *et al.*, 2003). Η χειρουργική αντιμετώπιση μπορεί να επιλεγθεί σε περίπτωση εντερικής απόφραξης ή οξείας περιτονίτιδας λόγω διάτρησης του εντερικού τοιχώματος. Η εντερική μορφή είναι πάρα πολύ δύσκολο να διαγνωστεί κλινικά λόγω της μη ειδικότητας των συμπτωμάτων (Couture *et al.*, 2003), σε αντίθεση με τη γαστρική μορφή, στην οποία η διάγνωση είναι συνήθως εύκολη με ενδοσκόπηση (Sasaki *et al.*, 2003).

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, εκτός από το στόμαχο και το λεπτό έντερο, η ανισακίδωση παρατηρείται, σπανιότερα βέβαια, και σε άλλα όργανα σε περιστατικά όπου η προνύμφη διατρύπα το τοίχωμα και εισέρχεται στην κοιλιακή κοιλότητα δημιουργώντας αλλοιώσεις στο πάγκρεας, στις ωοθήκες, την μήτρα, τον τράχηλο, το ήπαρ, τους πνεύμονες και τους υποδόριους ιστούς (Cespedes *et al.*, 2000, Matsuoka *et al.*, 1994). Αυτού του είδους η μορφή δεν είναι πολύ συχνή με λιγότερο ειδικές εκδηλώσεις και μπορεί να μοιάζει με άλλου είδους εντερικές παθήσεις.

Οι κίνδυνοι που αντιμετωπίζουν οι ασθενείς από τη μόλυνση με τις προνύμφες *Anisakis* και κυρίως από το *A. simplex*, έχουν αναγνωριστεί εδώ και πολύ καιρό, αλλά το τελευταίο διάστημα διαπιστώθηκε πως η κατανάλωση υλικού από νεκρά παράσιτα στο φαγητό εμφανίζει κάποιους κινδύνους. Οι αλλεργικές αντιδράσεις ποικίλλουν από μια ταχεία εμφανιζόμενη και πιθανότατα θανατηφόρα αναφυλακτική αντίδραση έως μια κνίδωση ή εντοπισμένο αγγειοοίδημα. Υπάρχουν και περιπτώσεις ασθενών, που μετά την πρόσληψη της ζωντανής προνύμφης, ανέπτυξαν ένα σύνδρομο κατά το οποίο ταυτόχρονα συνυπήρχαν κλινικές εκδηλώσεις αλλεργίας και γαστρεντερικών συμπτωμάτων. Αυτό περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Kasuya και αντιπροσωπεύει μια ασθένεια που αποκαλείται “γαστροαλλεργική

ανισακίδωση”. Τα κλινικά συμπτώματα ποικίλουν από μία οξεία κνίδωση και αγγειοοίδημα, τα οποία προσβάλλουν το 20% του πληθυσμού σε κάποια στιγμή της ζωής του και ιδιαίτερα τους νέους ενήλικες, μέχρι αναπνευστική ανεπάρκεια. Η αναφυλαξία αναφέρθηκε στο 27% των

ασθενών. Τα πρώτα σημάδια της αλλεργικής αντίδρασης εμφανίζονται συνήθως 60-120 λεπτά μετά την κατανάλωση του μολυσμένου ψαριού, αλλά μπορεί να πάρει μέχρι έξι ώρες μέχρι να εμφανιστεί (αν και η κλασική αναφυλαξία συνήθως εμφανίζεται μέσα σε λίγα λεπτά από την έκθεση), αλλά η αργότερη εμφάνιση των συμπτωμάτων θα μπορούσε να είναι αποτέλεσμα του χρόνου που χρειάζονται τα αλλεργιογόνα για να διέλθουν μέσω του στομάχου στον εντερικό ιστό. Σε αντίθεση με τις συνηθισμένες τροφικές αλλεργίες, βρέθηκε πως οι αλλεργικοί στο *Anisakis simplex* ασθενείς δεν εμφάνισαν προηγουμένως ατοπική δερματίτιδα και μέσω όρο ηλικίας 40-50 έτη (Audicana *et al.*, 2000). Έτσι σήμερα στη Βόρεια Ισπανία το *Anisakis simplex* θεωρείται πως είναι ο κύριος παράγοντας που σχετίζεται με κνίδωση και αγγειοοίδημα σε ενήλικες μετά την κατανάλωση ψαριών και θαλασσινών. Πάνω από το 50% αυτών των ασθενών χρειάστηκαν επείγουσα αγωγή, ενώ μερικοί χρειάστηκαν να νοσηλευτούν λόγω αναπνευστικής ανεπάρκειας, σοκ ή αγγειοοίδηματος.

Κλινικά περιστατικά σε ανθρώπους.

Στην Ιαπωνία κυριαρχεί η γαστρική μορφή της ανισακίδωσης (95% των περιστατικών), και επιδημιολογικές έρευνες έδειξαν ότι είναι πιο συχνή σε άτομα που διαμένουν στα παράλια και είναι ηλικίας 20-50 ετών (Asaishi *et al.*, 1989, Smith & Wooten, 1981), ενώ στην Ευρώπη η πιο συχνή μορφή είναι η εντερική (Van Thiel, 1976).

Στην Ισπανία δημοσιεύτηκαν οκτώ περιστατικά, από τα οποία το ένα ήταν γαστρικής μορφής, τέσσερα ήταν εντερικής μορφής, ενώ υπήρχαν δύο περιστατικά όπου οι προνύμφες ήταν στην κοιλιακή κοιλότητα και μία περίπτωση γαστρικής προσβολής από *Pseudoterranova* (Louredo *et al.*, 1997). Στην Κορέα από το 1989-1992 είχαν διαγνωστεί 107 περιπτώσεις ασθενών με οξεία γαστρικά συμπτώματα με αιτιολογικό παράγοντα το *A. simplex*. Στην Ιταλία, πρόσφατα δημοσιεύτηκαν δύο περιστατικά προσβολής από *A. pegreffii* (Fumarola *et al.*, 2009).

Στην Αμερική τα περιστατικά που αναφέρονται είναι λιγότερα από δέκα ετησίως, συχνότητα δηλαδή παρασιτισμού που δε συνάδει με το υψηλό ποσοστό παρασίτωσης που εμφανίζουν πάρα πολλά είδη ψαριών, τόσο στον Ατλαντικό όσο και στον Ειρηνικό Ωκεανό. Μία πιθανή εξήγηση για το παραπάνω μπορεί να είναι το ότι οι μολύνσεις είναι ήπιες και στις περισσότερες περιπτώσεις δε γίνεται διάγνωση.

Διάγνωση

Για την ανεύρεση και απομόνωση των προνυμφικών μορφών του παρασίτου στη σάρκα των ψαριών χρησιμοποιούνται διάφορες τεχνικές σύμφωνα με τον Οργανισμό Υγείας του Καναδά (www.hc-sc.gc.ca). Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται είναι οι εξής :

Μέθοδος φωτισμού.



Για την μέθοδο αυτή απαιτείται μία τράπεζα φθορίζοντα φωτισμού που πρέπει να διαθέτει τουλάχιστον δύο λάμπες φθορισμού των 20 Watt. Η επιφάνεια εργασίας πρέπει να είναι σε μήκος 30 x 60 cm και σε πάχος 5-6 mm ακριβώς. Η μέθοδος αυτή είναι το ίδιο αποτελεσματική τόσο με φρέσκα όσο και με κατεψυγμένα ψάρια.

Εικόνα 5 : Προνύμφη *Anisakis sp.* στη σάρκα Γουρλομάτη (*Micromesistius poutassou*) με τη μέθοδο του φωτισμού (www.usc.es/banim/doc/tppanisa.htm).

Η αποτελεσματικότητα της μεθόδου αυτής εξαρτάται από το πάχος του φιλέτου ψαριού που εξετάζεται και θεωρείται γενικά ακριβή για την ανεύρεση και απομάκρυνση των παρασίτων από τα ψάρια. Σύμφωνα με την έρευνα του (Levsen *et al.*, 2005), αποδείχθηκε πως μόνο το 7-

10% των προνυμφών που είναι στα φιλέτα εντοπίζονται με τη συγκεκριμένη τεχνική. Ένα άλλο μειονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι ότι δεν μπορούμε να διακρίνουμε τις ζωντανές από τις νεκρές προνύμφες. Με την τεχνική αυτή αναζητούμε τις σπειροειδείς, εγκυστωμένες προνύμφες, οι οποίες εμφανίζονται σαν μαύρες κουκίδες. Οι μη εγκυστωμένες προνύμφες είναι δυνατό να παρατηρηθούν στην επιφάνεια του φιλέτου ψαριού.

Υπεριώδης φωτισμός.

Σε ένα σκοτεινό δωμάτιο, κρατάμε μια λάμπα υπεριώδους φωτισμού 10 cm πάνω από την επιφάνεια του φιλέτου ψαριού και ελέγχουμε για προνύμφες που φθορίζουν. Το χρώμα του φθορισμού της κάθε προνύμφης χρησιμεύει επίσης και στην ταυτοποίηση του είδους του παρασίτου. Τα παράσιτα του γένους *Anisakis* φθορίζουν ένα μπλέ-άσπρο χρωματισμό. Όπως και με τον φωτισμό, η τεχνική αυτή δεν διακρίνει τα ζωντανά από τα νεκρά παράσιτα. Απαραίτητη η μάσκα στο πρόσωπο του ατόμου που εφαρμόζει την τεχνική αυτή για την προστασία από τον υπεριώδη φωτισμό.

Εξαγωγή

Η μέθοδος αυτή προσομοιάζει με τη μέθοδο Baerman που εφαρμόζεται για την ανεύρεση προνυμφών νηματωδών παρασίτων στα κόπρανα. Με τη μέθοδο αυτό βρίσκονται μόνο οι ζωντανές προνύμφες. Για την εφαρμογή της μεθόδου αυτής χρειάζεται μία συσκευή Baerman που περιλαμβάνει ένα γυάλινο χωνί στο στόμιο του οποίου προσαρμόζεται ένας ελαστικός σωλήνας του οποίου το ελεύθερο άκρο ασφαλίζεται με σφικτήρα. Στη συνέχεια, ποσότητα μέχρι 200 gr ιστού ψαριού τοποθετείται σε ένα ειδικό πλέγμα (No 4) που προσαρμόζεται επάνω στο γυάλινο χωνί, το οποίο γεμίζεται με φυσιολογικό ορό έτσι ώστε η μάζα του ψαριού να βυθίζεται ελαφρά στο υγρό. Ο ιστός σκεπάζεται από πάνω με πλαστικό καπάκι ή φύλλα αλουμινίου και παραμένει για 8-12 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (περίπου 20° C). Στο διάστημα αυτό οι προνύμφες θα μεταναστεύσουν από τον ιστό προς το υγρό (θετικός υδροτροπισμός) και θα συγκεντρωθούν στον ελαστικό σωλήνα που βρίσκεται στη βάση του χωνιού (θετικός γεωτροπισμός). Στη συνέχεια περισυλλέγονται 10 ml υγρού μετά το άνοιγμα του σφικτήρα μέσα σε ένα ποτήρι. Το υγρό εξετάζεται στο στερεοσκόπιο.

Πρόληψη

Η πρόληψη βασίζεται αποκλειστικά και μόνο στη μη κατανάλωση των μολυνουσών προνυμφών. Τα ωμά ψάρια είναι ασφαλή για κατανάλωση μετά από κατάψυξη σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από τους -20°C για 24 ώρες -αν και σε μερικές εργασίες στις ΗΠΑ βρέθηκαν προνύμφες *Anisakis* να έχουν επιβιώσει σε αυτές τις συνθήκες και για αυτό προτείνεται κατάψυξη σε -20°C ή και χαμηλότερα για τουλάχιστον μία εβδομάδα ή στους -35°C για 15 ώρες από τον FDA (FDA, 2007) - ή μετά από μαγείρεμα με θέρμανση πάνω από τους 60°C για ένα λεπτό ή με θέρμανση πάνω από τους 74°C για δεκαπέντε δευτερόλεπτα (σε φούρνο μικροκυμάτων). Ακόμη και στη περίπτωση αυτή όμως υπάρχουν αναφορές ότι το *Anisakis simplex* μπορεί να επιβιώσει σε θερμοκρασίες πάνω από 65°C μέσα στο φούρνο μικροκυμάτων (Purello-D'Ambrosio *et al.*, 2000). Μέθοδοι επεξεργασίας των ψαριών, όπως η αλάτιση, το μαρινάρισμα, και η κάπνιση στους -40°C , που θεωρούνται γενικά ικανές για την αποστείρωση άλλων τροφογενών παθογόνων, δεν είναι αρκετές για το *Anisakis sp* (Audicana & Kennedy, 2008). Τα αλλεργιογόνα αντιγόνα του *A. simplex* είναι πολύ ανθεκτικά στη θέρμανση και στη ψύξη. Έτσι, αν και αναμένεται ότι το μαγείρεμα να θανατώσει τα παράσιτα, μπορεί να μην οδηγήσει στην απώλεια της ικανότητας για ευαισθητοποίηση του οργανισμού. Ο μόνος τρόπος για να αποφύγουμε την εμφάνιση ανισακίδωσης και τις αλλεργικές αντιδράσεις που σχετίζονται με την παρουσία νεκρών προνυμφών είναι να μην καταναλώνουμε ωμά ή ακόμα και μαγειρεμένα ψάρια που φέρουν παράσιτα.

Περιοχή έρευνας

Η παρούσα έρευνα έγινε στην ιχθυόσκαλα της Μηχανιώνας, η οποία είναι η μεγαλύτερη της Βορείου Ελλάδας και από εκεί διακινούνται οι μεγαλύτερες ποσότητες ιχθύων που αλιεύονται στο Βόρειο Αιγαίο. Επίσης, βρίσκεται πολύ κοντά στην πόλη της Θεσσαλονίκης,

όπου εδρεύει το Εργαστήριο Παρασιτολογίας και Παρασιτικών Νοσημάτων του ΙΚΕΘ-ΕΘΙΑΓΕ, με σκοπό τη δυνατότητα άμεσης μεταφοράς και εξέτασης των δειγμάτων.



Εικόνα 6 : Ιχθυόσκαλα Μηχανιώνας (φωτογραφία Χαληγιάννης Ηλίας)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

Η ΠΑΡΟΥΣΑ ΕΡΕΥΝΑ

Ειδικό μέρος

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Δειγματοληψία και μεταφορά των ψαριών.

Πραγματοποιήθηκε στην Ιχθυόσκαλα του δήμου Μηχανιώνας του Νομού Θεσσαλονίκης τις πρώτες πρωινές ώρες και κατά το χρονικό διάστημα από τον Αύγουστο μέχρι τον Οκτώβριο του 2009. Κατά τη δειγματοληψία, συλλέγονταν ιχθύες που αλιεύθηκαν στις αλιευτικές ζώνες της περιοχής και μετά τοποθετούνταν σε ξεχωριστή σακούλα ο καθένας. Η μεταφορά των ψαριών στο εργαστήριο γινόταν άμεσα από την στιγμή της συλλογής τους και ακολούθως τοποθετούνταν σε ψυγείο και μέσα σε 48 ώρες γινόταν όλες οι απαιτούμενες εξετάσεις .

Συλλέχθηκαν ιχθύες από δώδεκα διαφορετικά είδη, συνολικά ογδόντα, και στα οποία περιλαμβάνονταν τα εξής :

- 1) *Engraulis Encrasicolus* (Γαύρος).
- 2) *Boops boops* (Γόπα).
- 3) *Scomber Japonicus Colias* (Κολιός).
- 4) *Gobius niger* (Γωβιός).
- 5) *Caranx hippos* (Κοκκάλι).
- 6) *Mullus barbatus* (Κουτσουμούρα).
- 7) *Pagellus erithrinus* (Λιθρίνι).
- 8) *Merluccius merluccius* (Μπακαλιάρος).
- 9) *Sardina pilchardus* (Σαρδέλα).
- 10) *Sardinella aurita* (Φρίσσα).
- 11) *Spicara smaris* (Μαρίδα).
- 12) *Trachurus Trachurus* (Σαυρίδι).

Η ταυτοποίηση των ιχθύων έγινε σύμφωνα με τις κλειδες προσδιορισμού των ελληνικών ιχθύων του Παναγιώτη Φ. Κασπίρη, Πανεπιστήμιο Πατρών, Τομέας Βιολογίας Ζώων Πάτρα 1986.



Εικόνα 7 : Από πάνω προς τα κάτω (σαρδέλες, κολιοί, κουτσουμούρες, λιθρίνια, γόπες) (φωτογραφία Χαληγιάννης Ηλίας)

Αρχικά, γίνονταν μια πρώτη εξέταση των ψαριών σε σχέση με την εξωτερική τους εμφάνιση, ενώ στη συνέχεια τα ψάρια εξετάζονταν ως προς το βάρος και το μήκος τους, τα οποία και καταγραφόταν. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Είδος	Είδος	Μήκος (cm)	Μέσο μήκος (cm)/ SD	Βάρος(gr)	Μ. βάρος (gr)/ SD
Γάυρος	<i>Engraulis encrasicolus</i>	12-13,2	12,76 ± 0,5	11,93-15,24	13,658 ± 1,45
Γωβιός	<i>Gobius niger</i>	12,4-14,5	13,16 ± 0,8	18,95-26,57	22,192 ± 2,93
Γόπα	<i>Boops boops</i>	16,5-17	16,76 ± 0,25	46,25-60,67	53,176 ± 5,73
Σαρδέλα	<i>Sardina pilchardus</i>	12,5-14	13,2 ± 0,57	18,3-24,1	20,92 ± 2,1
Κουτσουμούρα	<i>Mullus barbatus</i>	17-19	17,6 ± 0,89	42,29-72,65	58,02 ± 12,98
Φρίσσα	<i>Sardinella aurita</i>	18-21	19,9 ± 1,14	42,75-75,4	60,5 ± 11,97
Σαυρίδι	<i>Trachurus trachurus</i>	20-25	22,8 ± 2,018	67,23-149,04	105,85 ± 30,51
Κολιός	<i>Scomber japonicus Colias</i>	25-30	27,2 ± 2,16	187,51-232,34	206,364 ± 17,28
Μπακαλιάροι	<i>Merluccius merluccius</i>	26-28,5	26,7 ± 1,095	109,63-150,5	131 ± 18,071
Λιθρίνι	<i>Pagellus erithrinus</i>	11,1-15	13,18 ± 1,49	31,14-46,03	37,152 ± 6,12
Μαρίδα	<i>Spicara smaris</i>	10,5-13,5	12,6 ± 1,25	10,43-22,16	17,818 ± 4,37
Κοκκάλι	<i>Caranx rhonchus</i>	19,5-31	24,92 ± 4,86	67,2-345	176,44 ± 120,69

Πίνακας 1 : Καταγραφή των στοιχείων των αλιευμένων ιχθύων

Ακολουθούσε τομή των ιχθύων κατά μήκος της σπονδυλικής στήλης, διαχωρισμός των δύο ημιμορίων του σώματος τους και μακροσκοπική εξέταση των μυών καθώς και των εσωτερικών οργάνων τους (οισοφάγος, στόμαχος, έντερο, πυλωρικό τυφλό, ήπαρ και γονάδες) για παράσιτα. Όσα παράσιτα ανευρίσκονταν μακροσκοπικά, συλλέγονταν με λαβίδα, τοποθετούνταν σε τρυβλία Petri με διάλυμα NaCl 0,9% και ξεπλένονταν μέσα σε αυτό πολλές φορές. Στη συνέχεια τα ψάρια τοποθετούνταν ξεχωριστά σε διάλυμα πεψίνης και ακολουθούσε

η τεχνητή πέψη τους, ώστε να ανευρεθούν όλα τα παράσιτα. Η διαδικασία της τεχνητής πέψης περιγράφεται παρακάτω.

Διαδικασία τεχνητής πέψης.

- Ο μυϊκός ιστός κάθε ψαριού τοποθετείται σε γυάλινο ποτήρι ζέσεως που περιέχει τριπλάσια σε όγκο ποσότητα διαλύματος πεψίνης θερμοκρασίας 37⁰ C.
- Το γυάλινο ποτήρι ζέσεως τοποθετείται σε ανακινούμενο υδατόλουτρο, έτσι ώστε το επίπεδο του νερού να καλύπτει πάνω από 1 cm το επίπεδο του διαλύματος στο ποτήρι ζέσεως. Ανακινείται το δείγμα σε χαμηλή ταχύτητα για περίπου 15 λεπτά.
- Προσαρμόζεται η οξύτητα του δείγματος σε pH 2 με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος (HCL) κανονικότητας 6N, και στη συνέχεια το ποτήρι ζέσεως καλύπτεται με αλουμινόχαρτο και συνεχίζεται η ανακίνηση για 24 ώρες (ή μέχρι ο ιστός του ψαριού να πεπτει πλήρως).
- Το υλικό της πέψης διηθείται μέσα από μεταλλικό πλέγμα σε ένα κατάλληλο δοχείο. Το υλικό που έχει παραμείνει στο μεταλλικό πλέγμα ξεπλένεται με φυσιολογικό ορό και εξετάζεται σε τρυβλία Petri αφού αραιωθεί με φυσιολογικό ορό.
- Επιπρόσθετα το υλικό που πέρασε από το μεταλλικό πλέγμα αφήνεται να καθιζάνει για μία ώρα σε κωνική φιάλη και μετά εξετάζεται για παρουσία προνυμφών μικρότερου μεγέθους χρησιμοποιώντας στερεοσκόπιο (120x) ή μεγεθυντικό φακό.

Εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκε για την τεχνητή πέψη :

- Διάλυμα πεψίνης 2% (15 g πεψίνης διαλυμένο σε 750 ml φυσιολογικού ορού).
- 1,5 L ποτήρι ζέσεως, 250 ml ποτήρι ζέσεως.
- Ανακινούμενο υδατόλουτρο (37⁰ C).
- pH- μετρο και διάλυμα υδροχλωρικού οξέος κανονικότητας 6N.
- Αλουμινόχαρτο.
- Μεταλλικό πλέγμα.
- Δοχεία στα οποία να εφαρμόζει το μεταλλικό πλέγμα Φυσιολογικός ορός για το ξέπλυμα του μεταλλικού πλέγματος.
- Χοάνη.

- Στερεοσκόπιο.
- Λαβίδες και τρυβλία Petri που περιέχουν φυσιολογικό ορό.

Η συντήρηση και η ταυτοποίηση των παρασίτων.

Όλα τα παράσιτα που συλλέχθηκαν (μακροσκοπικά και μετά από τεχνητή πέψη), τοποθετούνταν ανά δείγμα ψαριού σε γυάλινα φιαλίδια με διάλυμα αιθανόλης 70%. Στα φιαλίδια αυτά τοποθετούνταν ετικέτες με όλα τα απαραίτητα στοιχεία (πχ. είδος ψαριού, αριθμός δείγματος, ημερομηνία δειγματοληψίας, είδος παρασίτου, εντόπιση του στον ξενιστή κ.α.). Ακολούθως, γινόταν η μορφολογική ταυτοποίηση τους σύμφωνα με τις κλείδες των νηματωδών παρασίτων των Anderson, Chabaud & Willmott. Αυτή γινόταν, μετά από διαύγαση των προνυμφικών μορφών με γαλακτικό οξύ και στη συνέχεια εξέταση με φωτεινό μικροσκόπιο σε μεγέθυνση 100-400x. Η ταυτοποίηση των προνυμφών της οικογένειας Anisakidae σε επίπεδο γένους βασίστηκε στη μορφολογία του γαστρεντερικού σωλήνα και του απεκκριτικού τους συστήματος των παρασίτων. Οι προνύμφες του γένους *Anisakis* στη συνέχεια κατηγοριοποιήθηκαν σε Τύπου I και II με βάση το σχήμα της ουράς τους και την παρουσία ή την απουσία άκανθας στο οπίσθιο άκρο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

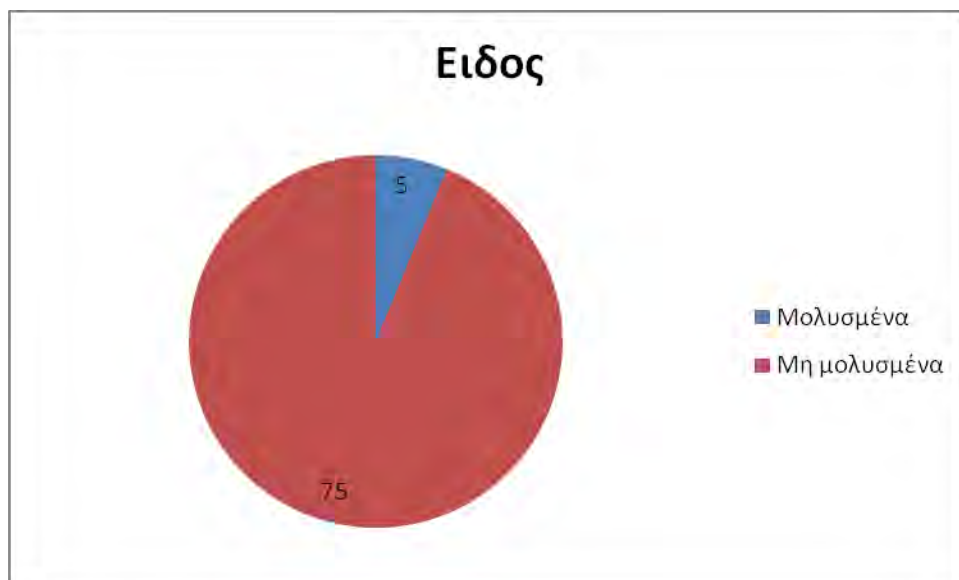
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Αποτελέσματα

Συνολικά, ογδόντα ψάρια του εμπορίου από δώδεκα διαφορετικά είδη εξετάσθηκαν για την παρουσία προνυμφών του γένους *Anisakis spp.* Η κατανομή των ιχθύων ανάλογα με το είδος τους είναι η εξής:

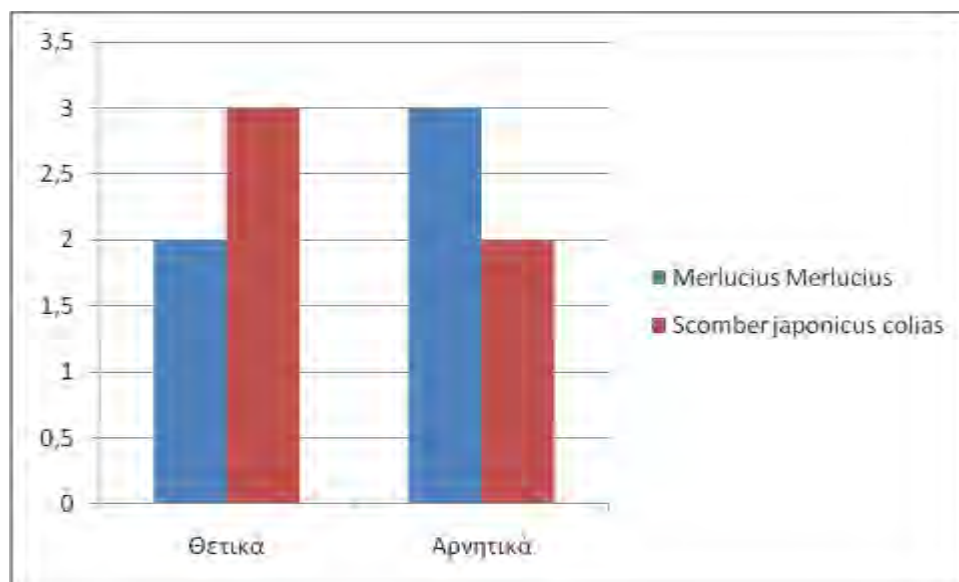
Είδος		Αρ.ιχθύων/είδος	Μόλυνση%
Γαύρος	<i>Engraulis Encrasicolus</i>	5	0
Γωβιός	<i>Gobius niger</i>	7	0
Γόπα	<i>Boops boops</i>	5	0
Σαρδέλα	<i>Sardina pilchardus</i>	10	0
Κουτσουμούρα	<i>Mullus barbatus</i>	8	0
Φρίσσα	<i>Sardinella aurita</i>	8	0
Σαυρίδι	<i>Trachurus Trachurus</i>	5	0
Κολιός	<i>Scomber Japonicus Colias</i>	5	60%
Μπακαλιάροι	<i>Merluccius Merluccius</i>	5	40%
Λιθρίνι	<i>Pagellus erithrinus</i>	7	0
Μαρίδα	<i>Spicara smaris</i>	10	0
Κοκκάλι	<i>Caranx Rhonchus</i>	5	0
Σύνολο ιχθύων		80	

Από το σύνολο των ογδόντα ψαριών, βρέθηκαν μολυσμένα τα πέντε ψάρια εμφανίζοντας ένα ποσοστό προσβολής 6,25%.



Γράφημα 1 : Απεικόνιση του ποσοστού μόλυνσης των ιχθύων

Από τα δώδεκα είδη ψαριών που εξετάστηκαν, μολυσμένα, ήταν ο μπακαλιάρος-*Merluccius merluccius* (δύο από τα πέντε ψάρια ήταν μολυσμένα, με ποσοστό προσβολής 40%) και ο κολιός-*Scomber japonicus colias* (τρία από τα πέντε ήταν μολυσμένα, με ποσοστό προσβολής 60%).



Γράφημα 2 : Ποσοστά προσβολής του μπακαλιάρου (*Merluccius merluccius*) και του κολιού (*Scomber japonicus colias*)

Όσον αφορά τα δώδεκα είδη ψαριών της έρευνας, τα πέντε από αυτά βρίσκονται στην επιφάνεια της θάλασσας (*Engraulis Encrasicolus*, *Sardina pilchardus*, *Trachurus Trachurus*, *Spicara smaris*, *Sardinella aurita*), τα άλλα πέντε είναι μεσαίου βάθους (*Boops boops*, *Scomber Japonicus Colias*, *Caranx hippos*, *Merluccius merluccius*, *Pagellus erithrinus*), ενώ τα τελευταία δύο είδη είναι βενθικά (*Mullus barbatus*, *Gobius niger*). Από αυτά, μόνο τα δύο είδη μεσαίου βάθους ήταν μολυσμένα.

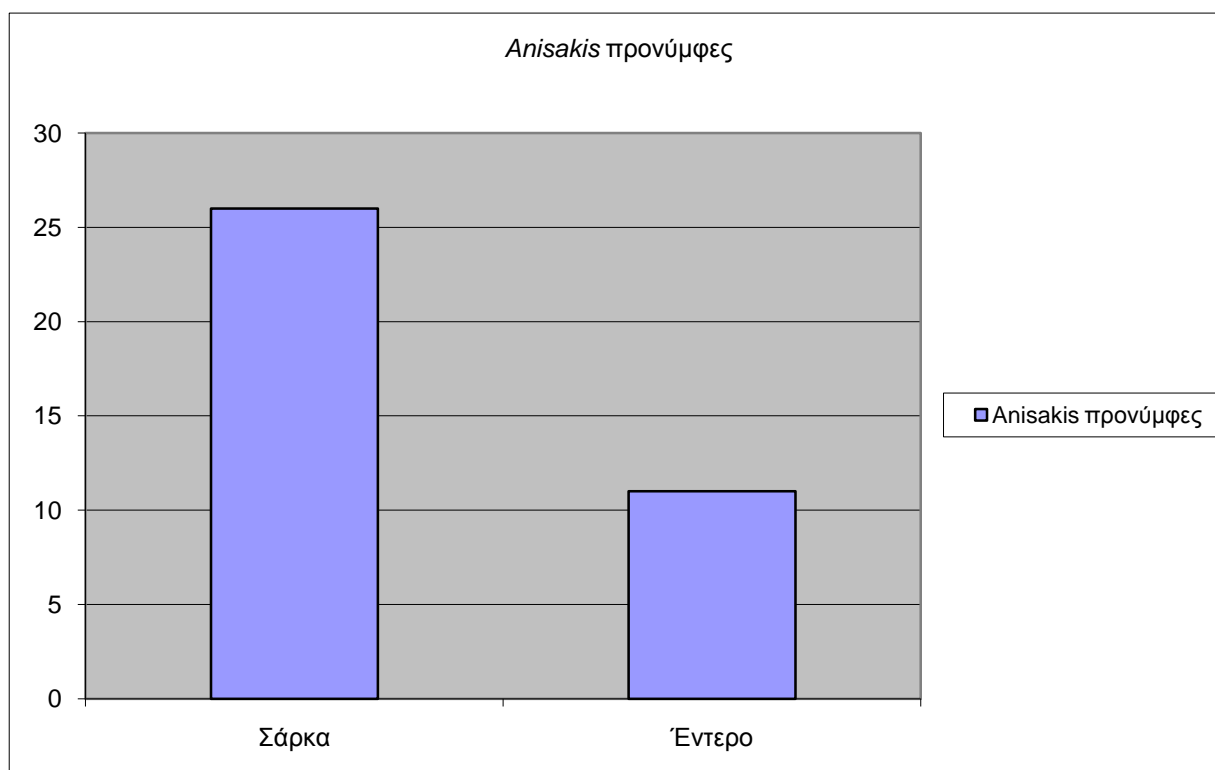
Βενθικά	Μεσαίου βάθους	Επιφανειακά
<i>Mullus barbatus</i>	<i>Boops boops</i>	<i>Engraulis</i> <i>Encrasicolus</i>
<i>Gobius niger</i>	<i>Scomber Japonicus</i> <i>Colias</i>	<i>Sardina pilchardus</i>
	<i>Merluccius Merluccius</i>	<i>Sardinella aurita</i>
	<i>Pagellus erithrinus</i>	<i>Trachurus Trachurus</i>

Caranx Rhonchus

Spicara smaris

Πίνακας 2 : Διάκριση των ψαριών ανάλογα με τη ζώνη βάθους.

Από τα πέντε μολυσμένα ψάρια, συλλέχθηκαν συνολικά τριάντα-εφτά προνύμφες *Anisakis* Τύπου I, από τις οποίες οι είκοσι-έξι βρίσκονταν στη σάρκα των ψαριών και οι υπόλοιπες έντεκα στο έντερό τους.



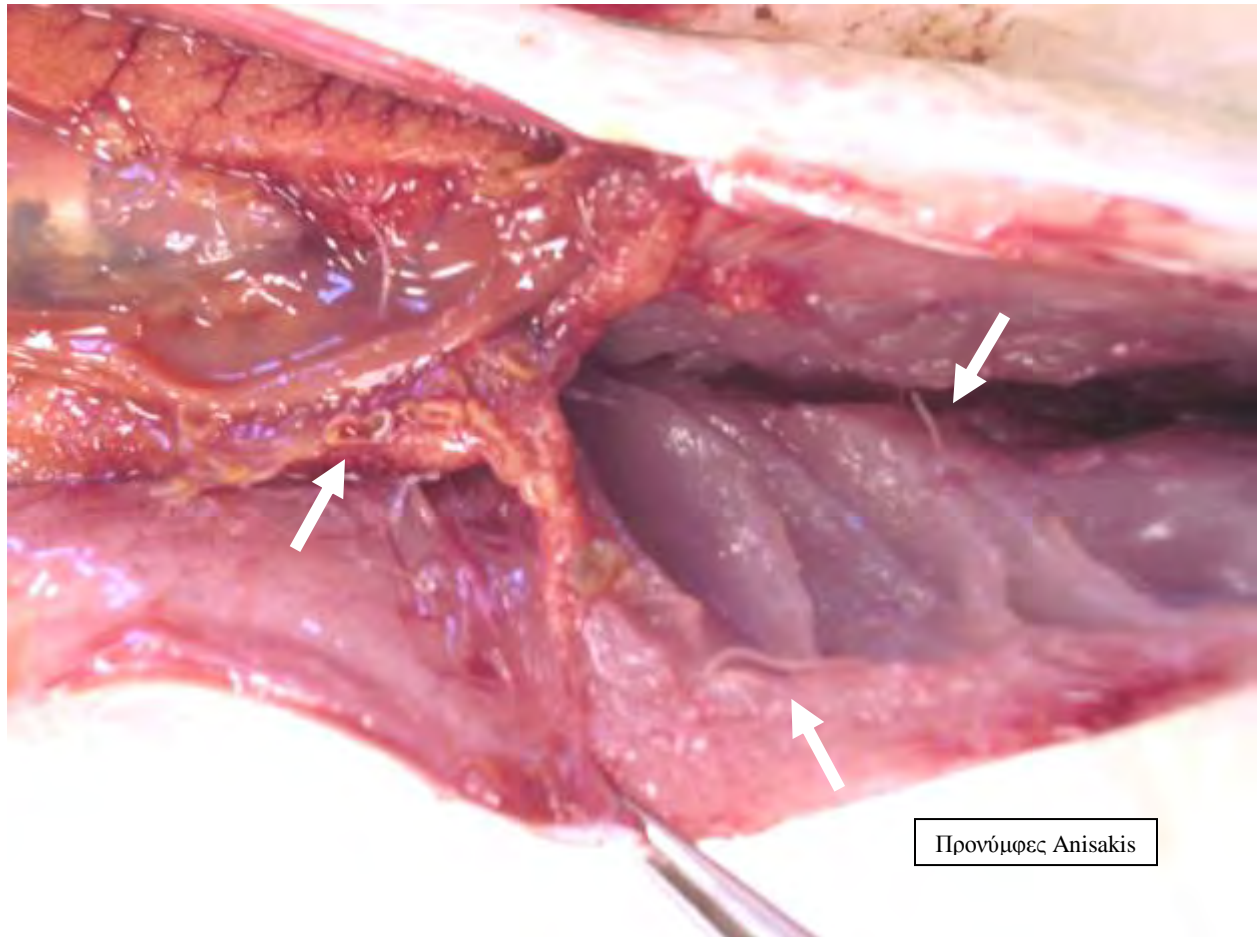
Γράφημα 3 : Εντόπιση προνύμφων *Anisakis* στα μολυσμένα ψάρια

Βρέθηκαν επτά προνύμφες στη σάρκα και στο έντερο των δύο από τους πέντε ιχθύες *Merluccius merluccius* και τριάντα άτομα στη σάρκα και στο έντερο των τριών από τους πέντε ιχθύες *Scomber japonicus colias*.

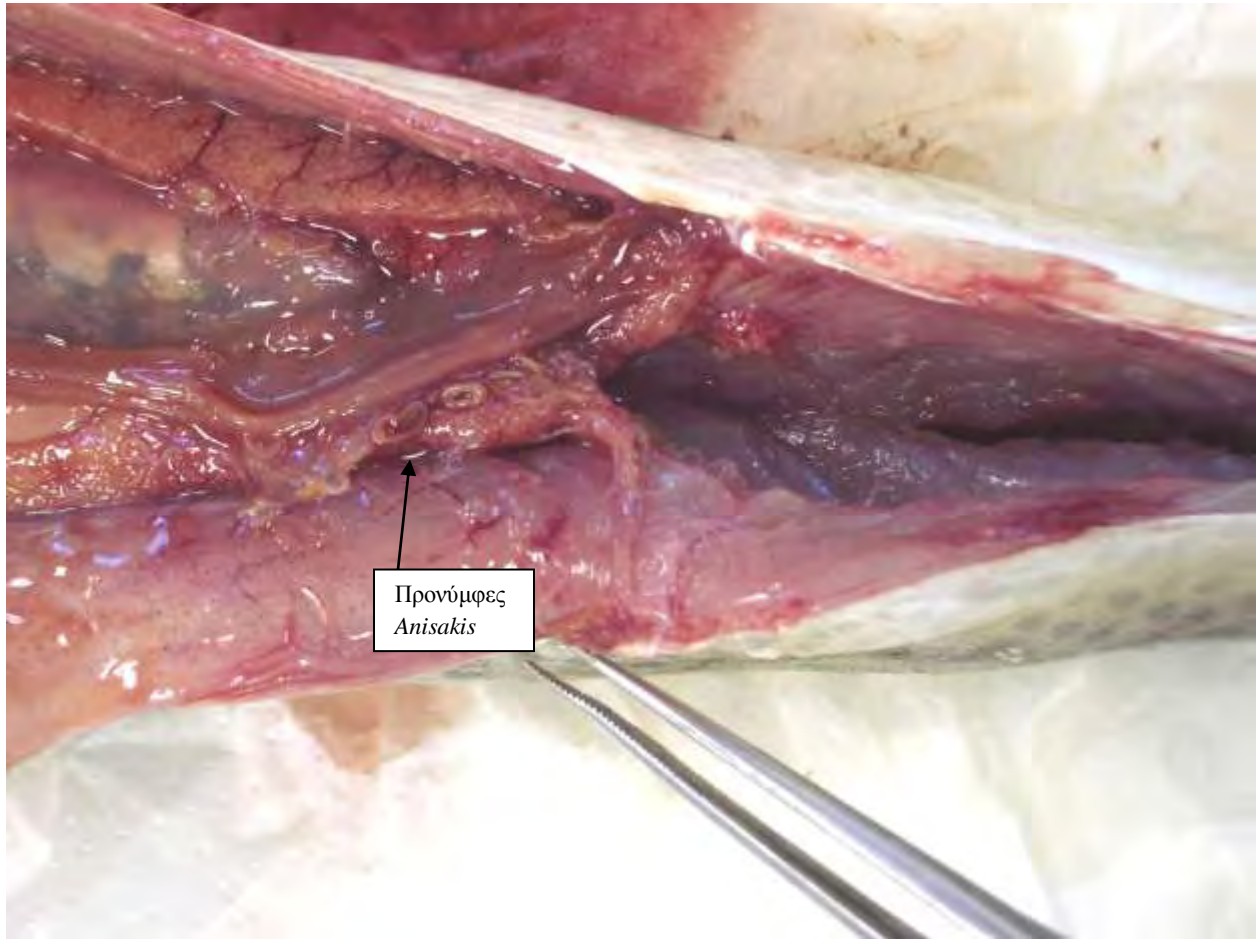
Από τους δύο μολυσμένους μπακαλιάρους, στον έναν βρέθηκαν δύο προνύμφες και στον άλλο πέντε.

Από τους τρεις μολυσμένους κολιούς, βρέθηκαν τέσσερεις προνύμφες στο ένα ψάρι, στο δεύτερο επτά και στο τρίτο δεκαεννιά προνύμφες.

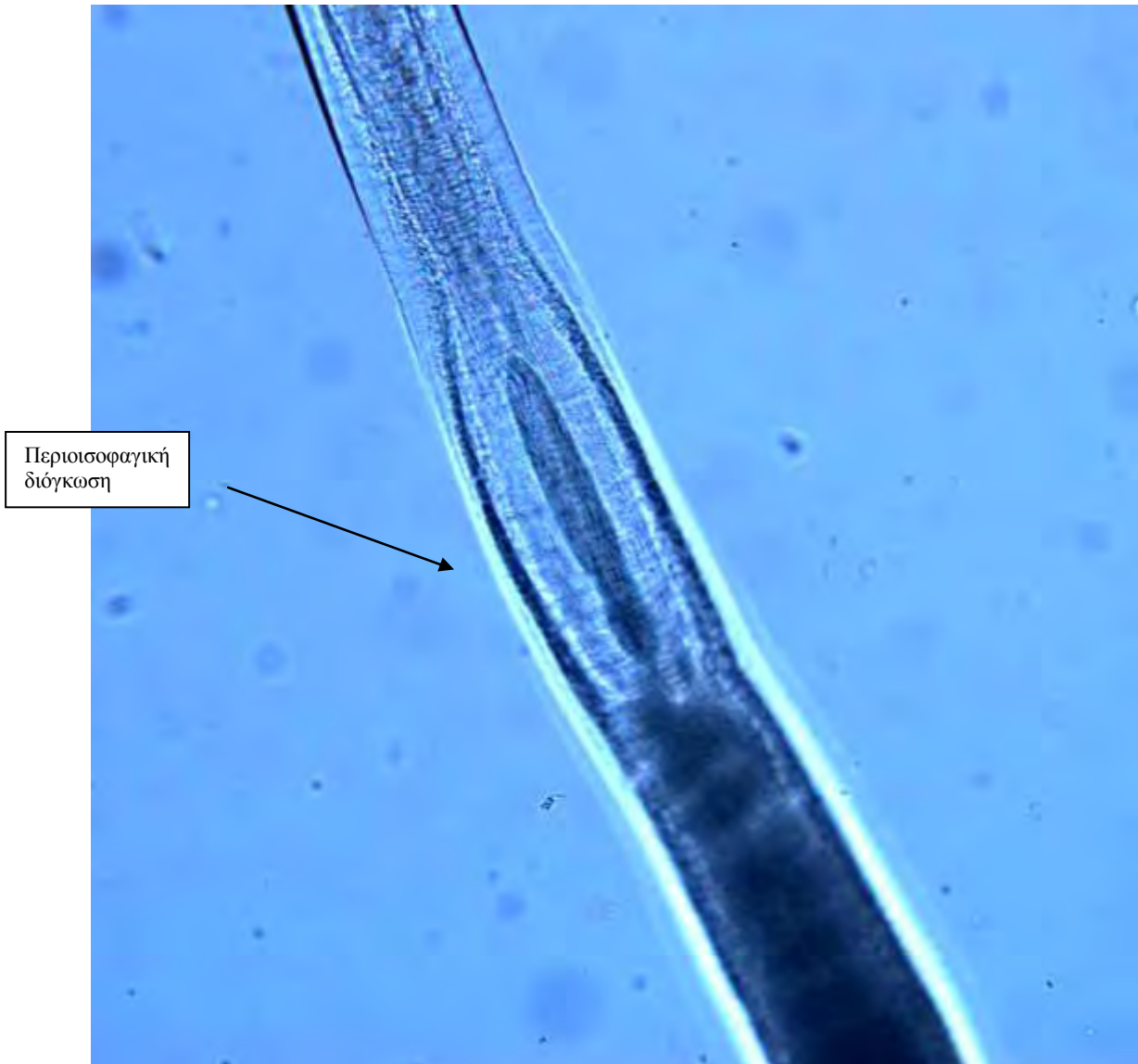
Στα υπόλοιπα δέκα είδη δε βρέθηκαν προνύμφες του γένους *Anisakis spp.*



Εικόνα 8 : Προνόμφες *Anisakis spp* σε μύες και εντερικό σωλήνα του *Scomber Japonicus Colias* (φωτογραφία Χαληγιάννης Ηλίας)



Εικόνα 9: Προνύμφες *Anisakis* spp σε μύες και εντερικό σωλήνα του *Scomber Japonicus Colias* (φωτογραφία Χαληγιάννης Ηλίας)



Εικόνα 10 : Διόγκωση 3^{ου} σταδίου προνύμφες *Anisakis* Τύπου I (φωτογραφία Χαληγιάννης Ηλίας)



Εικόνα 11 : Οπίσθιο άκρο με άκανθα από 3^{ου} σταδίου προνύμφη *Anisakis spp.* (φωτογραφία Χαληγιάννης Ηλίας)



Εικόνα 12 : Πρόσθιο άκρο με το δόντι προνύμφης 3^{ου} σταδίου *Anisakis* Τύπου I (φωτογραφία Χαληγιάννης Ηλίας)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η ανεύρεση των προνυμφών του γένους *Anisakis spp* στην παρούσα έρευνα ήταν αναμενόμενη, καθώς σε προγενέστερες μελέτες που έγιναν στην Μεσόγειο Θάλασσα και πιο συγκεκριμένα στην Ελλάδα, την Ισπανία, την Ιταλία, την Πορτογαλία αλλά και στις Βόρειο-αφρικάνικες ακτές της Μεσογείου επιβεβαιώθηκε η παρουσία του παρασίτου στην περιοχή (Sotiraki *et al.*, 2001, Παπουτσόγλου, 1975, Farjallah *et al.*, 2008, Rello *et al.*, 2009, Rello & Adroher, 2008, Valero *et al.*, 2006, Abollo *et al.*, 2003). Το πιο συχνό είδος που βρίσκεται στην Μεσόγειο είναι το *Anisakis pegreffii*, σε αντίθεση με τη Βόρεια Ευρώπη όπου είναι το *Anisakis simplex* (Mattiucci *et al.*, 1997). Όσον αφορά τη συγκεκριμένη έρευνα, οι προνύμφες που απομονώθηκαν από τα ψάρια ταυτοποιήθηκαν σε επίπεδο γένους και περαιτέρω κατηγοριοποιήθηκαν σε προνύμφες *Anisakis* Τύπου I. Για την επιπλέον διάκριση των προνυμφών στα διάφορα είδη απαιτείται η εφαρμογή μοριακών μεθόδων και ειδικότερα χρήση γενετικών δεικτών (genetic markers), τεχνικές που δεν υπήρχε δυνατότητα εφαρμογής τους στην παρούσα έρευνα.

Στην έρευνά μας, το συνολικό ποσοστό μόλυνσης των εξεταζόμενων ιχθύων ήταν 6,25% (Γράφημα 1). Το ποσοστό αυτό, δε διαφέρει σημαντικά με εκείνα παρόμοιων ερευνών που έγιναν στο παρελθόν στον Ελλαδικό χώρο και κατά τα οποία η μόλυνση ήταν γύρω στο 2% σύμφωνα με τους Sotiraki *et al.* (2001) στην αγορά της Θεσσαλονίκης και 2,3% σύμφωνα με τον Παπουτσόγλου (1975) στο Σαρωνικό κόλπο. Παρά το γεγονός ότι η παρούσα μελέτη δεν είναι ιδιαίτερα εκτεταμένη για να εξαχθούν συμπεράσματα που να αφορούν το σύνολο της χώρας φαίνεται, ότι το ποσοστό προσβολής των ιχθύων από το *Anisakis spp*, διατηρείται σταθερά στο ίδιο επίπεδο στην περιοχή μας χωρίς να παρουσιάζεται ιδιαίτερη έξαρση. Το γεγονός αυτό όμως δε πρέπει σε καμία περίπτωση να προκαλεί εφησυχασμό ειδικότερα αν λάβουμε υπόψη τη σοβαρότητα της συγκεκριμένης ζωοανθρωπονόσου, που αποτελεί ένα μόνιμο κίνδυνο για την υγεία των καταναλωτών.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσης έρευνας, οι προνύμφες *Anisakis* Τύπου I βρέθηκαν μόνο στα είδη *Merluccius merluccius* και *Scomber Japonicus Colias* σε ποσοστό 40%

και 60% αντίστοιχα (Γράφημα 2). Ο μπακαλιάρος είναι από τα είδη ψαριών που εμφανίζουν υψηλή συχνότητα μόλυνσης και έχει ερευνηθεί αρκετά. Έτσι, σύμφωνα με τη διεθνή

βιβλιογραφία, τα ποσοστά μόλυνσής του εμφανίζουν μεγάλη διακύμανση. Στην ευρύτερη περιοχή του Παρισιού, σε έρευνα που έγινε σε ψάρια του εμπορίου το ποσοστό μόλυνσης του *Merluccius merluccius* κυμαινόταν στο 88,57% σε σύνολο τριάντα πέντε ψαριών (Huang, 1988), ενώ σε ανάλογη έρευνα στο Σαρωνικό κόλπο βρέθηκαν μολυσμένα τα δεκατέσσερα από τα δεκαεφτά ψάρια -ποσοστό μόλυνσης 73% (Παπουτσόγλου, 1975). Σε άλλη έρευνα, που έγινε σε φρέσκα φιλέτα μπακαλιάρου που πωλούνταν στην αγορά της Κόρδοβας, το ποσοστό προσβολής των συγκεκριμένων ψαριών ήταν 27,5% (de la Torre Molina, 2000). Από την άλλη, το ποσοστό μόλυνσης για το *Scomber Japonicus Colias* κατά τον Παπουτσόγλου (1975) κυμαινόταν στο 50% (τρία από τα πέντε ψάρια ήταν μολυσμένα), ενώ στην άλλη έρευνα που πραγματοποιήθηκε στην Ελλάδα, σύμφωνα με τους Sotiraki *et al.*, (2001), στο έντερο ενός ψαριού αυτού του είδους βρέθηκαν τέσσερις προνύμφες του γένους *Anisakis*.

Το υψηλό ποσοστό προσβολής των ειδών αυτών, πιθανότατα εξαρτάται από τις διατροφικές τους συνήθειες, και ιδιαίτερα επειδή τα πρώτα χρόνια της ζωής τους τρέφονται ως επί το πλείστον με καρκινοειδή-κυρίως με αυτά που ανήκουν στην τάξη των Euphausiacea- αλλά και αργότερα που τρέφονται με διάφορα είδη ψαριών, όπως είναι οι σαρδέλες και οι γαύροι (Williams and Jones, 1994). Σε έρευνα που έχει πραγματοποιηθεί στο Αιγαίο Πέλαγος αναφέρεται ότι το 42-92% του στομαχικού περιεχομένου των ψαριών του είδους *Scomber Japonicus Colias* ανάλογα με την εποχή του έτους αποτελούνταν από διάφορα είδη καρκινοειδών (Bayhan *et al.*, 2007). Σύμφωνα με τα παραπάνω λοιπόν, είναι φανερό ότι οι διατροφικές τους συνήθειες ευνοούν και τη μόλυνσή τους από το παράσιτο αυτό. Επιπρόσθετα, σύμφωνα με τον Cannon (1977) το είδος *Anisakis* δείχνει προτίμηση σε είδη ψαριών που βρίσκονται σε μεσαία βάθη και ανοιχτές θάλασσες όπως είναι ο μπακαλιάρος και ο κολιός (Πίνακας 2).

Σε ότι αφορά τα υπόλοιπα είδη ψαριών που εξετάστηκαν σε κανένα από αυτά δε βρέθηκαν προνύμφες του παρασίτου παρότι έχουν αναφερθεί στο παρελθόν από έρευνες στη περιοχή μας και συγκεκριμένα στο έντερο ενός ψαριού του είδους *Boops boops* (Sotiraki *et al.*, 2001), στο είδος *Engraulis Encrasicolus* στην Ισπανία σε ποσοστό 5,6% (de la Torre Molina,

2000), και στη Νότιο-δυτική Ευρώπη σε ποσοστό 9,4% σε σύνολο εφτακοσίων ενενήντα δύο ψαριών (Rello *et al.*, 2009) όπως επίσης και στα είδη *Trachurus Trachurus* και *Mullus barbatus* με τα ποσοστά προσβολής να κυμαίνονται πολύ υψηλά (80-100%) για το πρώτο αλλά χαμηλά για το δεύτερο είδος (Manfredi *et al.*, 2000). Το γεγονός πως δε βρέθηκαν ψάρια θετικά στην παρουσία των προνυμφών, πιθανόν να οφείλεται στο μικρό δείγμα που εξετάστηκε και για πιο ασφαλή αποτελέσματα θα έπρεπε να εξετάσουμε μεγαλύτερο δείγμα ψαριών.

Επίσης, σύμφωνα με τον Παπουτσόγλου (1975), στη χώρα μας έχουν βρεθεί προνύμφες του παρασίτου και σε άλλα είδη ψαριών, όπως στα *Labrus Turdus* και *Trigle lucerna*, τα οποία όμως δεν εξετάστηκαν στη δική μας έρευνα.

Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, βρέθηκε πιθανή συσχέτιση της συχνότητας και της έντασης του παρασιτισμού με το μήκος και το βάρος των ψαριών (Cremonte & Sardella, 1997). Στη παρούσα έρευνα παρότι οι συγκεκριμένες μετρήσεις έγιναν (Πίνακας 1), λόγω του περιορισμένου αριθμού των μολυσμένων ψαριών δεν υπήρχε η δυνατότητα περαιτέρω συσχέτισης τους με τον παρασιτισμό.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί προηγούμενα, η ανισακίδωση είναι σοβαρή ζωοανθρωπονόσος και έχει σημαντικές επιπτώσεις στην υγεία των ανθρώπων. Στη χώρα μας, προς το παρόν τουλάχιστον, φαίνεται να μην αποτελεί σημαντικό κίνδυνο για τη δημόσια υγεία δεδομένης της έλλειψης (δημοσιευμένων τουλάχιστον) περιστατικών παρασίτωσης του ανθρώπου από τη μια και του χαμηλού σχετικά ποσοστού παρασιτισμού των ψαριών από την άλλη, όπως προκύπτει από την παρούσα αλλά και τις παλαιότερες έρευνες. Οι κυριότεροι λόγοι που πιθανά εξηγούν το φαινόμενο αυτό, είναι τόσο οι διατροφικές συνήθειες των Ελλήνων που περιορίζουν σημαντικά την πιθανότητα μόλυνσης από το παράσιτο όσο η συνήθως ήπια εκδήλωση του νοσήματος σε συνδυασμό με την αποτυχία διάγνωσης. Σήμερα όμως, που παρατηρούνται αλλαγές στο διαιτολόγιό μας με την εισαγωγή τροφίμων υψηλής επικινδυνότητας, ο κίνδυνος έξαρσης του παρασιτισμού και στη χώρα μας αυξάνει. Επιβάλλεται λοιπόν να διερευνηθεί πιο ολοκληρωμένα η παρουσία του παρασίτου τόσο από κτηνιατρικής όσο και από ιατρικής πλευράς με απώτερο σκοπό την εξασφάλιση της υγιεινής και ποιότητας των αλιευμάτων και την προστασία του καταναλωτή.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abollo, E., Paggi, L., Pascual, S., D'Amelio, S., 2003. Occurrence of recombinant genotypes of *Anisakis simplex s.s.* and *Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae) in an area of sympatry. *Infections, Genetics and Evolution* 3, 175-181.
- Anderson, R.C., 1992. Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission. CAB International, Wallingford, UK.
- Angot, V., Brasseur, P., 1993. European farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) are safe from anisakid larvae. *Aquaculture* 118, 339-344.
- Asaishi, K., Nishimo, C., Hayasaka, H., 1989. Geographical distribution and epidemiology, p 31-36. In H. Ishikura and M. Namiki (ed.), *Gastric anisakiasis in Japan. Epidemiology, diagnosis, treatment.* Springer-Verlag, Tokyo, Japan.
- Asato R, Wakuda M, Suiyoshi T, 1991. A case of human infection with *A.physeteris* larvae in Okinawa, Japan. *Jpn J Parasitol* 40: 181-183.
- Asphorm, P.E., 1995. *Anisakis simplex* Rudolphi, 1809, infection in fillets of Barents Sea cod *Gadus morhua* L. *Fisheries Research* 23, 375-379.
- Audicana, M., M. García, M. D. Del Pozo, I. Moneo, J. Díez, D. Muñoz, E. Fernández, M. Echenagusia, L. Fernández de Corres, and I. J. Ansotegui. 2000. Clinical manifestations of allergy to *Anisakis simplex*. *Allergy* 55(Suppl.):28-33
- Audicana, M.T., Kennedy, M.W. 2008. *Anisakis simplex*: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. *Clin. Microbiol. Rev.* 21, 360-379.
- Bahar Bayhan, Tuncay Murat Sever, Murat Kaya, 2007. Diet composition of the chub mackerel, *Scomber Japonicus* (pisces : Scombridae), in Candarli Bay (Aegean Sea, Turkey). *Rapp. Comm. Int. Mer Medit.*, 38.

- Bakke T.A., Barus V., 1975. Studies of the helminth fauna of Norway XXXVI: The common gull, *Larus canus* L., as final host for Nematoda. IQualitative and quantitative data on species of Ascaridoidea (Railliet & Henry, 1915), *Norw. J. Zool.*, 23, 183-191.
- Barnes, R. 1987. *Invertebrate Zoology*. Orlando, Florida: Dryden Press.
- Beaver, P.C., Jung, R.C., Cupp, E.W. 1984. *Clinical Parasitology*, ninth ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Bouree, P., Paugam, A., Petithory, J.C., 1995. Anisakidosis: Report of 25 cases and review of the literature. *Comp.Immun.Microbiol.Infect.Dis.* 18, 75-84.
- Bristow, G.A., Berland, B., 1991. A report on some metazoan parasites of wild marine salmon (*Salmo Salar* L.) from the west-coast of Norway with comments on their interactions with farmed salmon. *Aquaculture* 98, 311-318.
- Brusca, R., G. Brusca. 2003. *Invertebrates*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc..
- Bullini, L.1997. *Antarctic Communities: Species, Structure, and Survival*. UK: Cambridge University Press.
- Cannon, L.R.G., 1997. Some ecological relationships of larval ascaridoids from South-eastern Queensland marine fishes. *Int. J. Parasit.*, 7, p 227-232
- Cespedes M, Saez A, Rodriguez I, Pinto JM, Rodriguez R. 2000. Chronic anisakiasis presenting as a mesenteric mass. *Abdom Imaging*; 25:548.
- Chai, J.Y., Murrel, K.D., Lymbery, A.J, 2005. Fish-borne parasitic zoonoses: Status and issues. *International Journal for Parasitology* 35, 1233-1254.
- Choi SH, Ahn BM, Kim JK. 1989. Five cases of acute gastric anisakiasis. *Korean J Gastroenterol* 21:593-599.
- Clavel A, Delgado B, Sanchez-Acedo C, Carbonell E, Castillo J, Ramirez J, Quilez J, Gomez Lus R, Kagei N. 1993. A live *Anisakis physeteris* larva found in the abdominal cavity of a woman in Zaragoza, Spain. *Jpn J Parasitol* 42:445-448.
- Couture C, Measures L, Gagnon J. 2003. Human intestinal anisakiosis due to consumption of raw salmon. *Am J Surg Pathol*;27:1167-72.

Cremonte, F., Sardella, N. H., 1997. The parasito fauna of *Scomber Japonicus* Houuttuyn, 1782 (Pisces: Scombridae) in two zones of the Argentine Sea. Fisheries Research, 31 p1-9.

Deardorf, T.L., Kent, M.L., 1989. Prevalence of larval *Anisakis simplex* in pen-reared and wild-caught salmon (Salmonidae) from Puget Sound, Washington. J. Wildl. Dis. 25, 416-419.

de la Torre Molina R, Pérez Aparicio J, Hernández Bienes M, Jurado Pérez R, Martínez Ruso A, Morales Franco E., 2000. Anisakiasis in fresh fish sold in the north of Córdoba. Rev Esp Salud Publica 74(5-6):517-26.

Farjallah, S., Slimane, BB, Busi, M., Paggi, L., Amor, N., Blel, H., Said, K., D'Amelio, S., 2008. Occurrence and molecular identification of *Anisakis* spp. from the North African coasts of Mediterranean Sea. Parasitology Research, 102(3), 371-379.

Food and Drug Administration. 2007. *Anisakis simplex* and related worms. <http://www.cfsan.fda.gov/mow/chap25.html>.

Fumarola L., Monno, R., Lerardi, E., Rizzo, G., Giannelli, G., Lalle, M., Pozio, E., 2009. *Anisakis pegreffii* Etiological agent of Gastric Infections in Two Italian Women. Foodborne Pathogens and disease 6, 1157-1159.

Herreras, MV., Aznar, FJ., Balbuena, JA., Raga, JA, 2000. Anisakid larvae in the musculature of the Argentinean hake, *Merluccius hubbsi*. J. Food Protection 63(8), 1141-1143.

Huang, WY, 1988. Anisakids and human anisakiasis. 2. Investigation of the anisakids of commercial fish in the district of Paris. Ann. Parasitol. Hum. Comp., 63(3): 197-208.

Iglesias, R., D'Amelio, S., Ingrosso, S., Farjallah, S., Martinez-Cadeira, J.A., Garcia-Estevez, J.M., 2008. Molecular and morphological evidence of the occurrence of *Anisakis* sp A (Nematoda, Anisakidae) in the Blainville's beaked whale *Mesoplodon densirostris*. J. Helminthology 82, 305-308.

Inoue, K., Oshima, S.I., Hirata, T., Kimura, I., 2000. Possibility of anisakid larvae infection in farmed salmon. Fish Sci. 66, 1049-1052.

Ishida M, Harada MA, Egawa S, 2007. Three successive cases of enteric anisakiasis. Dig Surg.;24:228-231.

- Ishikura H, Kikuchi Y, Nagasawa K, Ooiwa T, Takamiya H, Sato N, Sugane K. 1993. Anisakidae and anisakidosis, p 43-102. In T Sun, Progress in Clinical Parasitology, Vol III, Springer-Verlag, New-York.
- Ishikura H. 1991. Anisakis [in Japanese]. Rinshou Syokaki Naika (Clin Gastroenterol); 6:1052-60.
- Kagei N, Sano M, Takahashi Y, Tamura Y, Sakamoto M. 1978. A case of acute abdominal syndrome caused by Anisakis type-II larva. Jpn J Parasitol 27:427-431.
- Kakizoe S, Kakizoe H, Kakizoe K. 1995. Endoscopic findings and clinical manifestations of gastric anisakiasis. Am. J. Gastroenterol;90:761-763.
- Kanarek, G., Rolbiecki, L., 2006. Third-stage larvae of *Anisakis simplex* (Rudolphi, 1809) in the Great Cormorant [*Phalacrocorax carbo sinensis* (Blumenbach, 1798)] from the Vistula Lagoon, Poland. Int. J. Oceanography and Hydrobiology 35(1), 23-28.
- Kasuya, S., H. Amano, and S. Izumi, 1989. Gastric anisakiasis with anaphylactoid reactions. ACI News 1:13-14.
- Kasuya, S., H. Amano, and S. Izumi, 1990. Mackerel-induced urticaria and Anisakis. Lancet 335:665.
- Kim SE, Kim SL, Lee KS, 1991. Gastric anisakiasis cases in Cheju-do, Korea. Korean J Parasitol 33:179-186.
- Køie, M., Berland, B., Burt, M.D.B., 1995. Development to third-stage larvae occurs in the eggs of *Anisakis simplex* and *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae). Can. J. Fish Aquat. Sci. 52:134-139.
- Kosuth P., Letkova V., Sotiraki S., 2001. Endoparasitic helminthes of the marine market fish in Thessaloniki region. 18th International Conference of the World Association for the advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP 01), Stresa, Italy, Abstract Book p46 D4p.
- Kuklin VV., 2001. On a helminth fauna of seabirds of the Archangelskaya Bay (Northern Island of Novaya Zemlya), Parazitologiya 35, 124-133 (In Russian).

Levsen, A., Lunestad, B.T., Berland, B., 2005. Low detection efficiency of candling as a commonly recommended inspection method for nematode larvae in the flesh of pelagic fish. *J. Food Protection* 68(4), 828-32.

Louredo A, Acedo de la Rosa F, Offibas de Paz V, Sanz E, Quiros BL, Goyanes M, 1997. Anisakidosis del colon como causa de abdomen agudo. *Rev Esp de Enf Dig* 89:403-406.

Lunestad, B.T., 2003. Absence of nematodes in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in Norway. *J. Food Prot.* 66, 122-124.

Ma, HW, Jiang, TJ, Quan, FS, Chen, XG, Wang, HD, Zhang, YS, Cui, MS, Zhi, WY, Jiang, DC, 1997. The infection status of anisakid larvae in marine fish and cephalopods from the Bohai Sea, China and their taxinomical consideration. *Korean J. Parasitol* 35(1): 19-24.

Manfredi MT, Crosa G, Galli P, Ganduglia S, 2000. Distribution of *Anisakis simplex* in fish caught in the Ligurian Sea. *Parasitol. Res.* 86(7): 551-3.

Marty, G.D., 2008. Anisakid larva in the viscera of a farmed Atlantic salmon(*Salmo salar*).

Matsuoka H, Nakama T, Kisanuti H, Uno H, Tachibana N, Tsubouchi H, 1994. A case of serologically diagnosed pulmonary anisakiasis with pleural efusion and multiple lesions. *Am J Trop Med Hyg*;51:819-22

Mattiucci, M., Nascetti, G., Cianchi, R., Paggi, L., Arduino, P., Margolis, L., Bratney, J., Webb, S., D'Amelio, S., Orecchia, P., Bullini, L., 1997. Genetic and ecological data on the *Anisakis simplex* complex, with evidence for a new species (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae) . *J. Parasitol.* 83:401-416.

Nakatani, Y., Suzuki, K. & Shimada, H. 1998. Anisakidosis: a case of intestinal obstruction from eating sushi. *American Journal of Gastroenterology* 93, 1172-1180.

Noh, J.H., Kim, B.J., Kim, S.M., Ock, M.S., Park, M.I, Goo, J.Y., 2003. A case of acute gastric anisakiasis provoking severe clinical problems by multiple infection. *Korean J Parasitol* 41:97-100.

- Olasdottir D., Lilliendahl k., Solmundsson J., 1996, Nematode infections in Icelandic seabirds, Bull Scan. Soc. Parasitol. 6, 124-125.
- Oliva, M., 1999. Metazoan parasites of the jack mackerel *Trachurus murphyi* in a latitudinal gradient from South America (Chile and Peru). Parasite, 6 (3):223-230.
- Ohtaki H and Ohtaki R. 1988. Clinical manifestation of gastric anisakiasis. In: Gastric Anisakiasis in Japan. Epidemiology, Diagnosis, Treatment. Ishihara H and Namiki M (eds). Tokyo: Springer-Verlag, pp37-46.
- Paggi, L., Nascetti, G., Cianchi, R., Orecchia, P., Mattiucci, M., D'Amelio, S., Berland, B., Bratley, J., Smith, J.W., Bullini, L., 1991. Genetic evidence for three species within *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Ascaridida, Ascaridoidea) in the North Atlantic and Norwegian and Barents Seas . Int. J. Parasitol. 21:195-212.
- Piccolo, G., Manfredi, MT., Vercruyssen, J., 1999. Anisakidae larval infection in fish fillets sold in Belgium. Vet Q. 21(2), 66-7.
- Podolska, M., 1995. The role of cod (*Gadus morhua*) in the life-cycle of *Anisakis simplex* in the southern Baltic Sea. Scientific Papers Presented at the Polish-Swedish Symposium on Baltic Cod, No. 327: 115-122.
- Purello-D'Ambrosio, F., E. Pastorello, S Gangemi, G. Lombardo, L. Ricciardi, 2000. Incidence of sensitivity to *Anisakis simplex* in a risk population of fishermen/fishermongers. Annals of Allergy, Asthma, & Immunology, 84 (4):439-444.
- Rello, F.J., Valero, A., Adroher, F.J., 2008. Anisakid parasites of the pouting (*Trisopterus luscus*) from the Cantabrian Sea coast, Bay of Biscay, Spain. J. Helminthology 82, 287-291.
- Rello, F.J., Adroher, F.J., Benitez, R., Valero, A., 2009. The fishing area as a possible indicator of the infection by anisakids in anchovies (*Engraulis encrasicolus*) from Southwestern Europe. International J. of Food Microbiology 129, 277-281.

- Rilley J., 1972, The pathology of *Anisakis* nematode infections of the Fulmar *Fulmarus glacialis*, Ibis 114, 102-104.
- Ritter, J. 2001. *Anisakis simplex* (On-line), Animal Diversity Web. Accessed December 27, 2009 at http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Anisakis_simplex.html
- Roberts, L., J. Janovy, 2000. Foundations of Parasitology: Sixth Edition. Boston: McGraw-Hill Higher Education.
- Rosales M, Mascaro C, Fernandez C, 1999. Acute intestinal anisakiasis in Spain: a fourth –stage *Anisakis simplex* larva. Mem Inst Oswald Cruz 94:823-6.
- Sasaki T, Fukumori D, Matsumoto H, 2003. Small bowel obstruction caused by anisakiasis of the small intestine: report of a case. Surg Today. 33:123-5.
- Smith, J. 1983. *Anisakis simplex*: Morphology and morphometry of larvae from euphausiids and fish, and a review of the life-history and ecology. Journal of Helminthology, 57 (3): 205-224.
- Smith, J.W., Wooten, R., 1987. *Anisakis* and anisakiasis. Adv. Parasitol. 16, 93-163.
- Sugimachi K, Inokuchi K, and Ooiwa T, 1985. Acute gastric anisakiasis of 178 cases. JAMA. 253:1012-1013
- Takabe K, Ohki S, Kunihiro O, 1998. Anisakidosis: a cause of intestinal obstruction from eating sushi. Am J Gastroenterol. 93:1172-3.
- Ugland Karl Inne , Einar Strømnes, Bjørn Berland and Paul Eric Aspholm Growth, 2004. Fecundity and sex ratio of adult whaleworm (*Anisakis simplex*; Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae) in three whale species from the North-East Atlantic. Parasitology Research, 92: 6, 484-489.
- Urawa, S. and Y. Fujisaki. 2006. Heavy infection of *Anisakis simplex* (Nematoda: Anisakidae) larvae in the muscle of maturing chum salmon: a preliminary report. (NPAFC Doc. 993). 6p. National Salomon Resources Center, Fisheries Research Agency, Toyohira-ku, Sapporo 062-0922, Japan.

Valero, A., Martín-Sánchez, J., Reyes-Muelas, E., Adroher, F.J., 2000. Larval anisakids parasitizing the blue whiting, *Micromesistius poutassou*, from Motril Bay in the Mediterranean region of southern Spain. J. Helminthology, 74:361-364.

Valero, A., Paniagua, M.I., Hierro, I., Diaz, V., Valderrama, M.J., Benitez, R., Adroher, F.J., 2005. Anisakid parasites of two forkbeards (*Phycis blennoides* and *Phycis phycis*)from the Mediterranean coasts of Andalucia (Southern Spain). International parasitology 55, 1-5.

Valls, A., Pascual, M. & Esteban, M.M., 2005. Anisakis allergy: an update. Revue Francaise d' Allergologie et d' Immunologie Clinique 45, 108-113.

Van Thiel, P.H., 1976. The present state of anisakiasis and its causative worms. Trop. Geo. Med.28, 75-85.

Yazaki Y and Namiki M., 1988. Biopsyof gastric anisakiasis with acute symptoms. In: Gastric Anisakiasis in Japan. Epidemiology, Diagnosis, Treatment. Ishihara H and Namiki M (eds). Tokyo: Springer-Verlag. 28:1911-1921.

Weerasooriya MV, Fujino T, Ishii Y, Kagei N, 1986. The value of external morphology in the identification of larval anisakid nematodes: a scanning electron microscope study. Zeitsch fur Parasiten 72:765-778.

Williams, H. and Jones, A., 1994. Parasitic Worms of Fish. Taylor and Francis Ltd, London, p. 401-407.

Παπουτσόγλου Σωφρόνιος Ευστράτιος, 1975. Μελέτη Μετάζωων Παρασίτων Ιχθύων του Σαρωνικού Κόλπου, Διδακτορική Διατριβή , Φυσικομαθηματική Σχολή Πανεπιστημίου Πατρών.

www.fda.gov

www.hc-sc.gc.ca

www.atlas.or.kr

www.usc.es/banim/doc/tppanisa.htm

www.en.wikipedia.org/wiki/Krill