

Monitoring výskytu larev čeledi *Anisakidae* v makrele obecné - *Scomber scombrus* a sledi obecném - *Clupea harengus* v tržní síti ČR

Bc. Pavla Dvořáková

Diplomová práce
2019



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Pavla Dvořáková**
Osobní číslo: **T18574**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie potravin**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Monitoring výskytu larev čeledě Anisakidae v Makrele obecné (Scromber scrombrus) a Sledí obecném (Clupea harengus) v tržní síti ČR**

Zásady pro vypracování:

1. Teoretická část

1. Výskyt larev čeledě *Anisakidae*
2. Vývojový cyklus larev čeledi *Anisakidae*
3. Nakažení larvami čeledě *Anisakidae* a dopad na zdraví člověka
4. Opatření proti nakažení larvami čeledě *Anisakidae*

2. Praktická část

1. Princip a podmínky trávící metody
2. Nákup a příprava vzorků k analýze
3. Provedení analýzy/trávící metody vzorků
4. Vyhodnocení zkoumaných vzorků

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

- [1] SHAMSI, S. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 3, 2014, 178–187 p.
- [2] BUCHMANN, K., MEHRDANA, F. *Food and Waterborne Parasitology* 4, 2016. 13–22 p.
- [3] JACOBS, D. E., FOX, M., GIBBONS, L. M., HERMOSILLA, C. *Principles of veterinary parasitology*. Hoboken, NJ, 2016. ISBN 978–047–0670–422.
- [3] BUCHMANN, K., MEHRDANA, F. Effects of anisakid nematodes *Anisakis simplex* (s.l.), *Pseudoterranova decipiens* (s.l.) and *Contracaecum osculatum* (s.l.) on fish and consumer health. *Food and Waterborne Parasitology*. 2016 (Volume 4), 13–22. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2016.07.003>.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Robert Gál, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce: **2. února 2019**

Termín odevzdání diplomové práce: **3. května 2019**

Ve Zlíně dne 2. února 2019

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Jiří Mižek, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 3.5.2019

.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídáne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce byla zaměřena na monitoring výskytu larev parazita čeledi *Anisakidae* v mořských rybách a to konkrétně v makrele obecné *Scomber scombrus* a sledi obecném *Clupea harengus*. Tyto mořské ryby jsou k nám do České republiky dováženy z přímořských států a jsou pro nás jako spotřebitele běžně dostupné v obchodní síti.

Během experimentální studie bylo použito makroskopické pozorování zakoupených vzorků u vytipovaného sortimentu mořských ryb a rybích výrobků. Následně byla provedena trávící metoda. Tyto dvě metody sloužily pro závěrečné vyhodnocení výsledků.

Provedeným výzkumem byl zjištěn průkaz výskytu parazita čeledi *Anisakidae* u zakoupených nekuchaných mořských ryb, a zároveň nebyl prokázán výskyt u zakoupených kuchaných ryb. Přínosem této práce je informovanost a zjištění výskytu parazita čeledi *Anisakidae* v tržní síti České republiky. V této práci jsou zahrnuty i informace, jak se běžný spotřebitel může tomuto globálnímu problému vyvarovat, a to nejen u nás v České republice, ale i v zahraničí. Jelikož největší výskyt těchto parazitů je přiřazován přímořským státům, kde je široká škála nabídky místních specialit.

Klíčová slova:

mořské ryby, makrela obecná, sled' obecný, parazité ryb

ABSTRACT

In this work was focused on monitoring the occurrence of larval parasite of the family *Anisakidae* in sea fish, specifically in *Scomber Scombrus* and *Clupea Harengus*. These marine fish are imported from the coastal states to the Czech Republic and are normally available to us as consumers in the commercial network.

During the experimental study, macroscopic observations of purchased samples of selected was used for a selected range of seafood and fish products. These two methods served me for the final evaluation of the results.

With the research carried out, was found the presence of the *Anisakidae* family parasite in the purchased non-disemboweled sea fish, and at the same time it has not been found in the purchased sample of disemboweled fish. The benefit of this work is detection of the

appearance of the parasite of the family *Anisakidae* in the market network of the Czech Republic. This work includes information on how the current consumer can avoid this global problem, not only in the Czech Republic but also abroad. The largest incidence of these parasites is attributed to the coastal states, where there is a wide range of local specialties.

Keywords:

sea fish, mackerel, herring, fish parasites

Ráda bych chtěla poděkovat svému vedoucímu diplomové práce Ing. Robertovi Gálovi, Ph.D., za vedení a cenné rady, které mi poskytl při zpracování této diplomové práce.

Dále bych chtěla poděkovat panu RNDr. Antonínu Prouzovi za pomoc při práci v laboratoři parazitologie a nemoci ryb, na SVU Jihlava v Českých Budějovicích a za možnost konzultovat s ním celý průběh a výsledky této diplomové práce.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1.1 TAXONOMIE	13
1.2 MORFOLOGIE	13
1.3 VÝVOJOVÝ CYKLUS.....	14
1.4 GEOGRAFICKÉ ROZŠÍŘENÍ ČELEDI <i>ANISAKIDAE</i>	16
1.5 ANISAKIDÓZA	17
1.5.1 Přenos na člověka.....	18
1.6 KLINICKÝ PRŮBĚH.....	19
1.7 DIAGNOSTIKA	19
1.8 <i>ANISAKIS SIMPLEX</i> JAKO ALERGEN	19
1.9 LÉČBA A PREVENCE.....	20
1.10 KONTROLNÍ OPATŘENÍ A DETEKCE LAREV	20
1.11 FAO ORGANIZACE PRO VÝŽIVU A ZEMĚDĚLSTVÍ	21
1.12 LEGISLATIVNÍ OPATŘENÍ V EU.....	21
1.13 LEGISLATIVNÍ OPATŘENÍ V ČR.....	22
1.14 ZPRACOVÁNÍ A TECHNOLOGICKÉ OPRACOVÁNÍ MOŘSKÝCH RYB.....	22
1.14.1 Třídění a úprava	22
1.14.2 Převoz mořských ryb.....	23
1.14.3 Rozmrazování	23
1.14.4 Kuchání	24
1.14.5 Solení.....	24
1.14.6 Marinování	24
1.14.7 Uzení	25
1.14.8 Kontrola parazitů v rybách a rybích výrobcích.....	25
1.15 HACCP.....	25
II PRAKTICKÁ ČÁST	27
2 CÍL PRÁCE	28
3 MATERIÁL A METODY	29
3.1 MATERIÁL.....	29
3.1.1 Příprava vzorků k analýze	29
3.2 METODY.....	30
3.2.1 Částečná parazitologická pitva.....	30
3.2.2 Trávicí metoda	30
3.2.2.1 Princip trávicí metody.....	30
3.3 VYHODNOCENÍ A VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ	32
4 VÝSLEDKY A DISKUZE	33
ZÁVĚR	43

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	45
SEZNAM OBRÁZKŮ	49
SEZNAM TABULEK.....	50
PŘÍLOHY	52

ÚVOD

Parazitické hlístice čeledi *Anisakidae* mohou u člověka způsobit onemocnění zvané anisakidóza. K napadení dochází pozřením syrového, nebo nedostatečně tepelně upraveného masa mořských ryb, případně rybích výrobků obsahující živé larvy tohoto parazita. Mezi nejčastěji vyskytující se druh patří *Anisakis simplex*.

V teoretické části jsem se zaměřila na charakteristiku a výskyt čeledi *Anisakidae* v mořských rybách, rizika při konzumaci rybího masa, vliv technologického opracování rybího masa na výskyt těchto parazitů a také mimo jiné na stanovení trávící metodou a dále jak této problematice předcházet. V praktické části je podrobněji popsán už samotný prováděný postup stanovení přítomnosti či nepřítomnosti larev v mase mořských ryb - makrele obecné *Scomber scombrus* a sledi obecném *Clupea harengus* a prezentace výsledků vyšetření.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Taxonomie

Říše: Animalia

Kmen: Nematoda - hlístice

Třída: Secernentea

Řád: Ascaridida

Čeleď: Anisakidae

Rod: *Anisakis*

Rod: *Contracaecum*

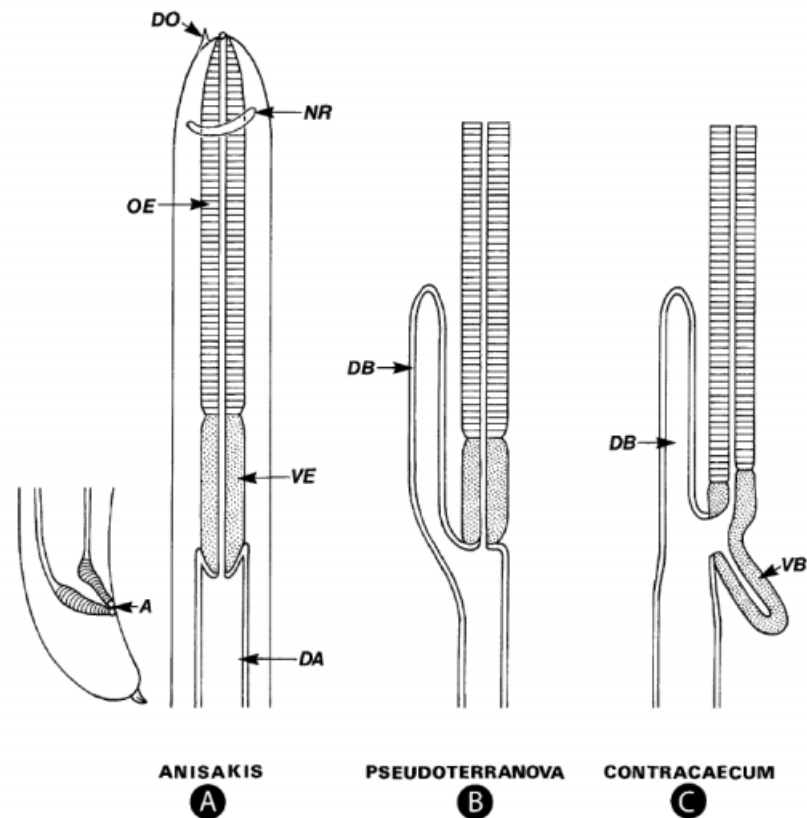
Rod: *Pseudoterranova*

1.2 Morfologie

Invazivní larvy anisakidů v rybách mohou být dlouhé až 50 mm a široké 1 - 1,5 mm. Jsou obvykle stočené do spirály.

Makroskopickou prohlídkou anisakidních larev můžeme rozlišit rozdíly mezi jednotlivými rody. Larvy druhu *Anisakis simplex* jsou bělavé až průhledné. Larvy *Contracaecum osculatum* jsou průsvitně šedé až hnědé. Larvy *Pseudoterranova decipiens* jsou načervenalé až hnědé. Přesné druhové určení larev není možné makroskopickým vyšetřením, ani pomocí optického mikroskopu, nicméně tyto tři uvedené rody larev lze snadno odlišit optickým mikroskopem podle hlavového a kaudálního konce a dále podle přítomnosti či absence slepého střeva, případně žaludečního přívěsku. K přesnému druhovému určení je nutné použití molekulárně biologických metod [1].

Níže na obrázku č. 1 jsou schematicky znázorněné morfologické rozdíly ve stavbě důležitých částí trávicí soustavy anisakidních hlístic rodu *Anisakis*, *Pseudoterranova* a *Contracaecum*.



Obr. 1 - Schematické znázornění diagnosticky důležitých částí trávicí soustavy anisakidních hlístic rodu **A) Anisakis**, **B) Pseudoterranova**, **C) Contracaecum**, **A.** anální otvor, **DA.** střevo **DB.** slepé střevo, **DO.** trn, **NR.** nervový prstenec, **OE.** jícen, **VB.** slepý výběžek žaludku, **VE.** žaludek [2].

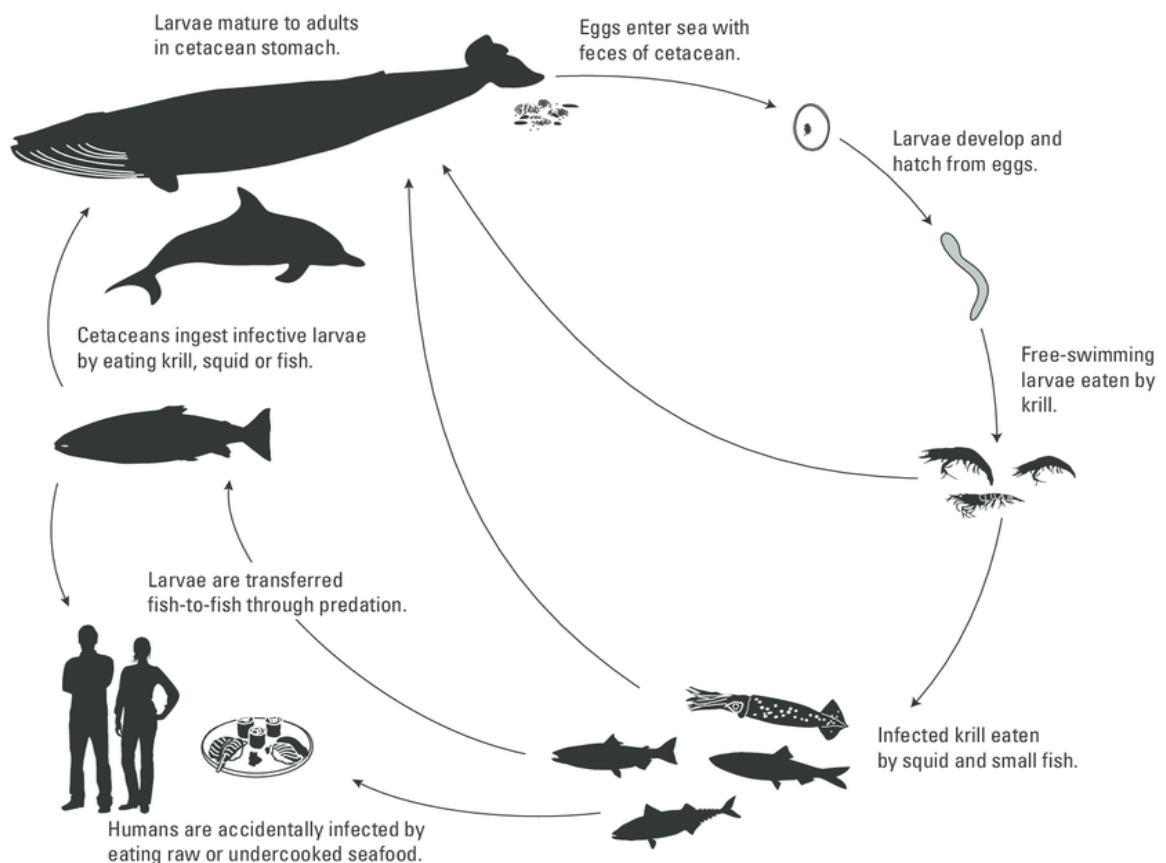
1.3 Vývojový cyklus

Dospělí červi parazitují zejména v žaludku kytovců (velryby, delfíni) a ploutvonožců (tuleni, lachtani, mroži), kde pohlavně dospívají, kopulují a samičky produkují vajíčka. Nepoškozená vajíčka jsou vylučována exkrementy do mořské vody. Vylíhnuté larvy, mohou přežít v mořské vodě po celé týdny. Pokud larvu pozře první mezihostitel, kterým jsou zejména drobní mořští korýši, larva roste a migruje do jejich tělní dutiny. Pokud infikovaný korýš či měkkýš je konzumován rybami a hlavonožci, larvy začnou migrovat k játrům, zapouzdřovat se ve střevech a gonádách. Mezihostitel je organismus, ve kterém dochází k nepohlavnímu rozmnožování a nacházejí se v něm infekční stádia parazita. Když jiná ryba pozře infikovanou rybu či hlavonožce, tak nový hostitel se chová jako paratenický hostitel neboli transportní. Což znamená, že se v něm mohou hromadit

infekční stádia těchto larev a mohou v něm i delší dobu přežít, bez ztráty schopnosti vyvolat nákazu. Tzn., že larvy zůstanou stále v infekční fázi L3. Jako paratenický hostitel slouží celá řada mořských ryb a hlavonožců například sled' obecný, treska obecná, losos, makrely, sardinky, chobotnice. V konečném hostiteli larvy rychle dosahují pohlavní dospělosti. Obvykle parazitují v žaludku, kde se nachází ve velkých shlucích 50 - 100 jedinců. Shluky jsou velké o průměru 1 - 6 cm.

Pokud dojde k úhynu hostitele, larvy začnou migrovat z vnitřních orgánů do svaloviny, kde je více pravděpodobné, že budou znovu přeneseny do konečného hostitele.

Níže na obrázku č. 2 je znázorněný vývojový cyklus čeledi *Anisakidae*, kde jsou vidět všechny možné varianty, jak může dojít k přenosu L3, jak na definitivního hostitele, tak na hostitele paratenického, či další možný přenos mezi paratenickými hostiteli navzájem. [3, 4].



Obr. 2 - Vývojový cyklus hlístic čeledi *Anisakidae* [5].

Pohlavně dospělí červi čeledi *Anisakidae* mají širokou škálu hostitelů v celém svém životním cyklu. Mezi napadenými rybami mohou být velryby *Balaenoptera acutorostra*, *Globicephala melaena*, *Orcinus orca*, delfini *Delphinus delphis*, *Lagenorhynchus albirostris*, *Stenella coeruleoalba* a dále také i v Baltském moři tuleni *Halichoerus grypus*, *Phoca violina* [6].

1.4 Geografické rozšíření čeledi *Anisakidae*

Hlístice čeledi *Anisakidae* lze nalézt prakticky ve všech mořích a oceánech, kde žijí jejich hostitelé a mezihostitelé. Můžeme je nalézt jak v tropických, subtropických oblastech, tak i v oblastech mírného pásma a v oblastech polárních. V chladnějších oblastech je jejich výskyt vyšší, než v oblastech teplejších. Mohou se ale také vyskytovat v dovezených rybách, které jsou dováženy do zemí, které nemají moře a vlastní rybolov. Hlístice čeledi *Anisakidae* mají široké geografické rozšíření a je tedy obtížné ho přesně určit. U nás již v roce 1955 Chalupický poukazuje na nález nematodů dovezené zásilce sledů z Norska. Prokázal 60 % abundanci u mražených sledů. Larvy byly nacházeny na gonádách, především jikrách a méně mlíčí. V roce 1976 Konečný informoval o nálezech vývojových stádií *Anisakis marina* u konzervovaných tresčích jater v oleji, které byly vyrobeny v SSSR a Norsku. Parenchym jater byl silně zbytnělý a na jejich povrchu se nacházela světlešedá, spirálovitě zatočená nitkovitá těla parazitů. Larvy dosahovaly délky 1,5 cm a šířky 1mm. V roce 1990 Nagasawa našel parazity *Anisakis marina* u téměř 164 druhů mořských ryb. Další hlášení výskytu r. *Anisakidae* bylo ze Spojených států amerických v lososu atlantském. Ve Španělsku v nakládaných ančovičkách a syrových sardinkách, další hlášení bylo také z Koreje, Francie [7, 8].

Nedávno i u nás v České republice ministerstvo zdravotnictví už několikrát varovalo, před konzumací těchto rybích výrobků. V roce 2011 byla do České republiky dovezena zásilka sledů pocházející z Norska, která obsahovala červy čeledi *Anisakidae*. Výsledek byl potvrzen v úředně odebraném vzorku laboratoří SVÚ Jihlava. Do ČR bylo dodáno 5000 kg mražených celých ryb. Surovina měla být zpracována na uzené sledě. Následně byl vydán zákaz uvádění do oběhu a likvidace zásilky. V tomto případě Státní veterinární správa ČR informovala i ostatní členské státy EU systémem rychlého varování RASFF [9].

Další obdobný případ se stal v roce 2016, kdy hygienici objevili v jedné šarži „losos divoký - uzený“ červa. Laboratorní vyšetření potvrdilo přítomnost *Anisakis simplex*. Výrobek byl stažen z trhu a zlikvidován [10].

1.5 Anisakidóza

Onemocnění anisakidóza je známo již z 60. let 20. století. V 60. letech se termín anisakidóza používal nejen pro označení lidské nemoci způsobené larvami *Anisakis spp.* ve třetím stádiu, ale také i jinými druhy larev čeledi *Anisakidae*. V roce 1998 byly skupinou odborníků (SNOAPAD) zavedené nové a přesnější termíny: 1. anisakidóza - onemocnění způsobené jakýmkoliv druhem čeledi *Anisakidae*; 2. anisakiáza - onemocnění způsobené hlísticemi r. *Anisakis*; 3. pseudoterranovosis - onemocnění způsobené hlísticemi r. *Pseudoterranova*.

Anisakidóza se vyskytuje po celém světě. Případy anisakidózy byly zaznamenány převážně přímořskými státy (Španělsko, Itálie, Asie, Austrálie), kde je běžná konzumace syrových rybích pokrmů, nebo nedostatečně tepelně upravených ryb a rybích pokrmů. Doposud nejčastěji hlášené a zaznamenané lokality výskytu larev čeledi *Anisakidae* jsou uvedeny níže na obrázku č. 3 [1, 11].

Location	Genus of worm causing anisakidosis		
	<i>Anisakis</i>	<i>Pseudoterranova</i>	<i>Contracaecum</i>
Australia	—	—	+
Canada	+	—	—
Chile	—	+	—
Croatia	+	—	—
Denmark	+	—	—
France	+	—	—
Germany	+	—	+
Holland	+	—	—
Iceland	—	+	—
Italy	+	—	—
Japan	+	+	+
Korea	+	+	—
Norway	+	—	—
Spain	+	—	—
South Africa	+	—	—
Taiwan	+	—	—
USA	+	+	—

Obr. 3 - Geografické rozložení případů Anisakidózy [12].

V posledních dvou desetiletích došlo k nárůstu prevalence Anisakidózy na celém světě, pravděpodobně z důvodu zvýšení poptávky po syrových nebo nedostatečně tepelně upravených rybích potravinách, ale také díky používání lepších diagnostických metod. Jedná se o zoonotické onemocnění, které je způsobeno pozřením syrového nebo nedostatečně tepelně upraveného masa mořských ryb, infikovaného larvami hlístic čeledi *Anisakidae*. Mezi zvláště rizikové rybí pokrmy a speciality, připravované převážně ze syrového rybího masa patří např. japonské sushi a sashimi, filipínské bagoong, jihoamerické ceviche, holandského soleného nebo uzeného sledě, španělské boquerones či gravlax. Boquerones jsou ančovičky marinované ve vinném octě. Gravlax je syrové maso lososa, které je marinované v soli, cukru a koření [13].

Případ anisakidózy byl publikován v roce 1960 nizozemským autorem Van Thielem. Tento autor popsal výskyt hlístic r. *Anisakidae* v uzené rybě. Na základě této skutečnosti byla v Nizozemsku následně do právních předpisů zapracována povinnost vyžadující zmrazení všech ryb určených ke konzumaci v syrovém stavu [7].

1.5.1 Přenos na člověka

Mezi druhy, které mohou být pro člověka infekční, patří zejména *Anisakis simplex*, *Anisakis physeteris*, *Anisakis pegreffii*, *Anisakis decipiens*. V několika případech bylo u člověka nalezeno i *Contracaecum osculatum*, například v Japonsku na ostrově Hokaido. Tyto nálezy jsou ale mimořádně ojedinělé. Po konzumaci syrového či nedostatečně tepelně upraveného rybího masa nebo syrových rybích pokrmů obsahující larvy čeledi *Anisakidae* v L3 fázi, mohou larvy proniknout do žaludku, sliznice střev. Což má za následek bolesti břicha, zvracení, či jiné žaludeční a střevní potíže. Dále se může projevit leukocytóza vznikající při některých infekcích, ke které dojde zvýšením počtu leukocytů v krvi. U dětí se může projevit eozinofilie, kdy dojde ke vzestupu počtu bílých krvinek nad fyziologickou hodnotu. Objevuje se často u alergických reakcí nebo parazitárních onemocnění. Po pozření živých larev se může u lidí projevit anisakidóza a alergická reakce. Po pozření mrtvých larev se u lidí může projevit pouze alergická reakce [3, 13, 14].

1.6 Klinický průběh

Klinický průběh žaludeční anisakidózy je charakterizován jako náhlý projev příznaků, mezi které patří nevolnost, epigastrická bolest (pod žebry v oblasti jater) a zvracení. Projev epigastrické bolesti už může být závažnější a nemusí na ní zabrat analgetika. U osob se střevní anisakidózou začínají symptomy obvykle 5 až 7 dní po požití larvy [15].

1.7 Diagnostika

Žaludeční anisakidóza je často špatně diagnostikována. Může být zaměněna s peptickým neboli žaludečním vředem, žaludečním nádorem a polypy. Střevní anisakidóza může být chybně diagnostikována jako peritonitida neboli zánět pobřišnice.

Diagnózu lze stanovit pomocí endoskopie, radiologického nebo ultrazvukového vyšetření. Byly také provedeny různé imunologické testy používané pro nepřímou diagnózu. Sérologické testy nejsou pro potvrzení diagnózy příliš vhodné, neboť antigeny anisakidů vykazují křížovou reakci s antigeny řady blízce příbuzných druhů hlístic - např. *Ascaris*, *Toxocara* (škrkavky) [16, 17].

1.8 *Anisakis simplex* jako alergen

Anisakis simplex je nyní ve světě považován za nejčastější potravinový alergen. Tento alergen je odolný proti vysokým teplotám a může se tedy projevit i po požití tepelně zpracované ryby či pokrmů, které obsahují mrtvé larvy nebo jejich části. Alergická reakce se může také projevit po konzumaci drůbeže, která byla krmena rybí moučkou vyrobenou z ryb, které byly napadeny larvami r. *Anisakidae*.

V posledních letech byl často hlášen výskyt silných alergických reakcí, které se projeví 2 až 6 hodin po pozření nakaženého masa. Klinické příznaky se mohou pohybovat od izolovaného otoku po kopřivku až na životu ohrožující anafylaktický šok. *Anisakis simplex* byl označen jako etiologický agens alergických reakcí, které jsou zprostředkované imonoglobulinem (Ig) E protilátky [15, 18].

1.9 Léčba a prevence

Jednou z možných a účinných léčeb anisakidózy může být použití anthelmintika, například Albendazol. Další možnou léčbou může být endoskopické či chirurgické odstranění živých parazitů. Larvy hynou tři týdny od vypuknutí infekce. Pokud infekce neproběhne, není nutné je operativně odstraňovat. Pokud ale dochází k tvorbě granulomů (chronických zánětů), vředů či jiným patologickým změnám, tak chirurgické odstranění je nezbytné.

Mezi doporučení pro prevenci můžeme zařadit ochranu spotřebitele, a to informovaností o dané problematice. Při cestování do zahraničí a na dovolené je potřeba se vyhnout zejména pokrmům a místním specialitám, které jsou připravovány ze syrových nebo nedostatečně tepelně upravených mořských ryb a mořských plodů [18, 19].

1.10 Kontrolní opatření a detekce larev

Preventivní a kontrolní opatření se zaměřují na manipulaci, skladování a nakládání s rybami po odlovení. Okamžité vyvrhnutí ryby snižuje zoonotický potenciál parazita tak, že nedojde k migraci larev z vnitřních orgánů do svaloviny. Dále je ale nutné zajistit, aby vnitřnosti nebyly vyhozeny do moře a požírány jinými rybami, ale aby byly řádně zlikvidovány. Je zde totiž možné riziko, že po vyhození vnitřností ulovených ryb do moře a oceánů, se larvy anisakidů mohou dostat zpět do koloběhu s paratenickými hostiteli.

Po odlovení a vyvrhnutí ryb se následně provádí vizuální kontrola filetů pro detekci larev. Larvy, nacházející se hlouběji ve svalovině se detekují metodou prosvícení. Další metodou je kompresní metoda a následné využití fluorescence zmrazených larev. Přítomné larvy ve svalovině jsou viditelné v podobě fluoreskujících skvrn. Vzorek silný 1 mm až 2 mm hluboce zmrazeného filé ($\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$) nejméně 12 hodin před vizuální kontrolou. UV světlo 366 nm.

K detekci se může použít i laboratorní trávicí metoda za použití roztoku obsahující pepsin, HCl a vodu. Tato metoda je časově náročnější, proto se provádí pro specifické průzkumy, než pro masový screening. Dále se může k detekci využít i PCR v reálném čase kombinovaná s optimalizovaným postupem extrakce DNA. Nevýhodou této metody jsou vysoké náklady, a proto není vhodná pro průmyslově získané ryby.

Mezi opatření, která zaručují devitalizaci životaschopných larev *Anisakis marina* patří tyto následující technologické podmínky zpracování:

- hluboké zmrazení rybí suroviny na teplotu - 20 °C minimálně po dobu 24 hodin
- zajištění tepelné úpravy s ohřevem tak, aby v jádře rybí svaloviny bylo dosaženo minimální teploty 70 °C
- úprava solením, tak aby solná lázeň o koncentraci 12 - 20 % soli byla expedována po dobu 21 až 35 dnů, podle druhu rybí suroviny
- během marinování bylo dosaženo rovnoměrného pH nálevu 4,2 ve všech částech rybí suroviny [20, 21].

1.11 FAO Organizace pro výživu a zemědělství

FAO je hlavním orgánem OSN, který řeší otázky rozvoje zemědělských oblastí, rozvoj venkovských oblastí a dále také řeší problém chudoby a hladu ve světě. Cílem FAO je zajistit všem lidem pravidelný přístup dostatečného množství kvalitních potravin, tak aby mohli vést aktivní a zdravý život. FAO sídlí v Římě a řídí jí konference členských států, která se schází jednou za dva roky. Byla založena 16. října 1945, tento den si připomínáme jako Mezinárodní den výživy.

Tato organizace zpracovává zprávu, která poskytuje informace o *prevalenci Anisakis simplex*. Ve většině vyšetřených vzorků ryb pocházejících z mořského rybolovu byly přítomny larvy *Anisakis simplex*. Paraziti však nebyly nalezeny u ryb pocházejících z akvafarem [22, 23].

1.12 Legislativní opatření v EU

- Nařízení Komise (ES) č. 1276/2011, kterým se mění příloha III. Nařízení (ES) č. 853/2001, pokud jde o ošetření produktů rybolovu určených k lidské spotřebě za účelem usmrcení životaschopných parazitů [24].
- Příloha III oddíl VIII kapitola III písm. D Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 obsahuje ustanovení, jejichž cílem je zajistit v produktech

rybolovu usmrcení životaschopných parazitů v larválním stadiu, kteří mohou představovat zdravotní riziko pro spotřebitele [25].

- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1379/2013 ze dne 11. prosince 2013 o společné organizaci trhů s produkty rybolovu a akvakultury a o změně nařízení Rady (ES) č. 1184/2006 a (ES) č. 1224/2009 a o zrušení nařízení Rady (ES) č. 104/2000 [26].

1.13 Legislativní opatření v ČR

- Vyhláška č. 134/2014 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 290/2008 Sb., o veterinárních požadavcích na živočichy pocházející z akvakultury a na produkty akvakultury, o opatřeních pro předcházení a zdolávání některých nákaz vodních živočichů, ve znění vyhlášky č. 59/2013 Sb. [27].
- Vyhláška č. 69/2016 Sb. Vyhláška o požadavcích na maso, masné výrobky, produkty rybolovu a akvakultury a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich [28].
- Vyhláška č. 366/2005 Sb. Vyhláška o požadavcích vztahujících se na některé zmrazené potraviny [29].
- Zákon č. 99/2004 Sb., o rybníkářství, výkonu rybářského práva, rybářské strážní, ochraně mořských rybolovných zdrojů a o změně některých zákonů (zákon o rybářství) [30].

1.14 Zpracování a technologické opracování mořských ryb

1.14.1 Třídění a úprava

Prvním krokem po výlovu ryb je jejich třídění. Mořské ryby se třídí dle druhu, hmotnosti či počtu ryb. Kategorie třídění jsou uvedeny v Nařízení Rady (ES) č. 2406/1996 o stanovení společných obchodních norem pro některé produkty rybolovu. Třídění má velký vliv na efektivnost technologického zpracování jako je kuchání, filetování, solení, marinování či uzení. Technologická úprava ryb je dnes prováděna strojně na velkých a výkonných linkách, většinou přímo na lodních továrnách nebo systémových pobřežních zařízeních. Tělní dutina musí být dokonale očištěna. Způsoby technologického opracování - nekuchané,

kuchané, s hlavou nebo bez hlavy, s ploutvemi nebo bez nich, porcované na části nebo filetované. Filety mohou být s kůží nebo bez kůže [31, 32].

1.14.2 Převoz mořských ryb

Velikostně tříděné mořské ryby jsou k nám dovážené hluboce zmrazené. K přepravě se využívají mrazírenské kamiony a poté je rybí surovina uchována v mrazírenských skladech s nekolísavou vnitřní teplotou suroviny nejvýše - 18 °C.

Dle Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) 853/2004, kterým se stanoví specifické hygienické předpisy pro potraviny živočišného původu - Následující produkty rybolovu musí být zchlazeny na dobu nejméně 24 hodin zmrazeny na teplotu nepřekračující ve všech částech produktu - 20 °C; toto zpracování musí být provedeno u této suroviny nebo konečného výrobku:

- a) produkty rybolovu určené ke spotřebě v syrovém stavu nebo téměř v syrovém stavu
- b) produkty rybolovu určené ke spotřebě z níže uvedených druhů, jestliže mají být uzeny za studena, kdy teplota uvnitř produktu rybolovu nepřekročí 60 °C
 - i. sled'
 - ii. makrela
 - iii. šprot
 - iv. volně žijící losos obecný nebo losos čavyča
- c) marinované a/nebo nasolené produkty rybolovu, pokud použité ošetření nepostačuje k zabití larev hlístic [21, 33].

1.14.3 Rozmrazování

Prvním technologickým krokem je rozmrazování suroviny. Během tohoto procesu dochází k 5% hmotnostním ztrátám. Při nešetrném rozmrazování mohou být hmotnostní ztráty vyšší až 12 %. Dochází souběžně i ke ztrátám nutriční hodnoty. Existuje mnoho způsobů rozmrazování suroviny. Patří sem rozmrazování vzduchem, vodou, kontaktní, mikrovlnné. Je důležité rybu po rozmrazení ihned dále zpracovat, hrozí zde totiž riziko mikrobiálního rozkladu [31].

1.14.4 Kuchání

Odstraňování vnitřností probíhá tak, že se ryba nejprve rozřízne nožem či okružní pilou od análního otvoru k hlavě. Po rozříznutí břišní dutiny se vyjmou veškeré vnitřní orgány a tělní dutina se vyčistí od krve, krevních sraženin a orgánů.

Po vykuchání se vnitřnosti rozdělí na požitelné a nepožitelné. Jikry, mlíčí, hepatopankreas a slezina patří mezi požitelné orgány. Mezi nepožitelné vnitřnosti patří střeva, žlučový váček, plynový měchýř a ledviny. Během kuchání je důležité dbát na to, aby v průběhu kuchání nedošlo ke kontaminaci, a to proříznutím střev nebo žlučového váčku [34, 35].

1.14.5 Solení

Následuje solení suroviny, které je nejstarším způsobem konzervace. Jedná se o osmoabiotický pochod, při kterém proniká stěnami buněk tekutina do slaného okolí. Dochází k rozpouštění soli či ředění roztoku a k nárůstu koncentrace soli v buňkách. Solení produktu probíhá buď v solné lázni, nebo na sucho. Koncentrace soli a způsob solení se volí podle toho, k jakému účelu jsou ryby soleny. Silné solení ryb se dosahuje v tekutém podílu rybiho těla min. 14 % koncentrace NaCl a více. Doba solení je 21 dní. Ryby takto solené jsou velmi trvanlivé, avšak mají nepříjemně slanou chuť. Středně solené ryby obsahují asi 10 - 14 % soli a doba solení je 28 dní. Slabě solené ryby 6 - 10 % soli s minimální dobou solení 35 dní. Střední a slabé solení je vhodné pro další technologické zpracování, jako je marinování a uzení [31, 34].

1.14.6 Marinování

Dalším technologickým krokem, který se využívá zejména u sledě obecného *Clupea harengus* a makrely obecné *Scomber scombrus* je studené marinování. V tomto případě se pro výrobu využívá celá nekuchaná ryba nebo fileť. Marináda se skládá ze 4 - 8 % kyseliny octové, 4 - 12 % jedlé soli a koření. Doba marinování je zpravidla 3 - 4 dny při teplotách 10 - 15 °C. Marinování se provádí v kameninových vanách či kádích. Během marinování je nutné s rybami občas zamíchat. Zrání se sleduje podle vzniku aroma, změny vybarvení a vzhledu rybiho masa. Zralé maso je bělavé. Rybí svalovina se postupně přeměňuje na stravitelnou formu. Po vyžrání se ryby vyberou z marinovací lázně a operou vodou [21, 31].

1.14.7 Uzení

Uzení mořských ryb se provádí studeným a horkým kouřem. Antimikrobiální a antioxidantní složky kouře mají konzervační účinek. Tyto složky pozastavují nebo úplně zastavují činnost mikroorganismů. K antimikrobiálnímu účinku také přispívá i snížení aktivity vody, ke kterému během uzení dochází. Uzení studeným kouřem 17 - 25 °C po dobu 70 hodin. Uzení horkým kouřem - nejprve se provádí předsušení 45 - 60 °C, poté se teplota zvýší na 85 - 110 °C po dobu 1 hodiny a nakonec se teplota sníží na 80 - 90 °C, aby se vytvořila barva a aroma. Vyuzené maso se nechá zchladnout [31, 37].

1.14.8 Kontrola parazitů v rybách a rybích výrobcích

Ryby a rybí výrobky musí být v průběhu výroby a před uvedením do prodeje určité k lidské spotřebě podrobeny vizuální prohlídce za účelem odhalení a odstranění viditelných parazitů a vyřazení viditelně napadených ryb nebo jejich oddělených částí z prodeje pro lidskou spotřebu.

Ryby a rybí výrobky musí být při uvádění na trh provázeny potvrzením výrobce, v němž je uvedeno, jakému ošetření byly podrobeny. Dále zde musí být uvedeno, že se výrobce o tomto ošetření přesvědčil [21].

1.15 HACCP

Jednou z povinností výrobce potravin je výroba jakostních a zdravotně nezávadných potravin. K významným systémům managementu potravinářství patří analýza nebezpečí a kritické kontrolní body - HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points). Systém kritických bodů se upravuje pro každý výrobní proces zvlášť.

Sledí jsou hlavní výrobní surovinou, která se používá v tuzemských zpracovnách pro výrobu teplých a studených marinád či uzení. V rámci zavedení systému HACCP je výrobce povinen stanovit kontrolní místa preventivních prohlídek zpracované rybí suroviny a sledovat extenzitu a intenzitu výskytu parazitů.

Extenzita, jedná se o prevalenci, neboli promoření obsádky a udává se v %. Intenzita, je množství daného parazita ve vyšetřované rybě pod mikroskopem. Udává se v kusech.

Zásady kritických bodů jsou členěny do následujících kroků:

- 1) Vymezení výrobní činnosti a úkolů výrobce
- 2) Provedení popisu výrobku
- 3) Zjištění očekávaného použití výrobku
- 4) Sestavení diagramu výrobního procesu
- 5) Potvrzení diagramu výrobního procesu za provozu
- 6) Provedení analýzy nebezpečí
- 7) Stanovení kritických bodů
- 8) Stanovení znaků a hodnot kritických mezí pro každý kritický bod
- 9) Vymezení systému sledování zvládnutého stavu v kritických bodech
- 10) Stanovení nápravných opatření pro každá kritický bod
- 11) Stanovení ověřovacích postupů
- 12) Zavedení evidence a dokumentace o postupech a vedení záznamů

Organizace je povinna vytvořit a předložit systém evidence obsahující dokumentaci, všechny podklady ze zavádění systému kritických bodů. Dále předložit záznamy fungování ve výrobním procesu. Veškerá dokumentace musí být podle potřeby aktualizována.

Kritickými kontrolními body pro prevenci jsou:

- Rybolov v oblastech s nízkou prevalencí larvální anisakidózy
- Ryby pocházející z akvakultury
- Aplikace fyzikálně chemických úprav na rybolov k zajištění usmrcení larev
- Fyzické oddělení „kontaminovaných“ produktů rybolovu během zpracování
- Dodržování teploty a doby marinování
- Dodržování rychlosti zmrazování a výstupní teploty u zmrazených výrobků
- Dodržování všech pravidel zásad správné výrobní praxe [21, 36, 38].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

2 CÍL PRÁCE

Hlavním cílem této diplomové práce byl monitoring výskytu čeledi *Anisakidae* v makrele obecné *Scomber scombrus* a sledi obecném *Clupea harengus* v tržní síti ČR. Ke zjištění přítomnosti či nepřítomnosti larev čeledi *Anisakidae* ve vzorcích vybraných mořských ryb byla provedena nejprve adspekce a poté trávicí metoda.

Druhým dílčím cílem bylo seznámení a přiblížení této méně známé problematiky odborné veřejnosti.

Třetím dílčím cílem bylo poukázat na možné riziko konzumace mořských ryb, které se u nás běžně prodávají a jsou běžně dostupné v tržní síti České republiky.

3 MATERIÁL A METODY

3.1 Materiál

3.1.1 Příprava vzorků k analýze

Všechny vyšetřované ryby byly zakoupeny v běžné maloobchodní tržní síti. Ryby byly parazitologicky vyšetřeny v období od září do prosince roku 2017. Na přítomnost larev anisakidů bylo vyšetřeno celkem 21 kusů mořských ryb, z toho bylo 9 kusů makrely obecné *Scomber scombrus* a 12 kusů sledě obecného *Clupea harengus*.

Při nákupu byl brán zejména zřetel na různé způsoby jejich technologického zpracování. Z technologického hlediska se jednalo o ryby chlazené (nekuchané), uzené (kuchané / nekuchané) a filety. Konkrétně bylo parazitologicky vyšetřeno 9 kusů makrely obecné, z toho byly 3 ks chlazené nekuchané a 6 ks uzených a kuchaných a 12 kusů sledě obecného, z toho bylo 6 ks uzených nekuchaných a 6 ks filetů s kůží. Nekuchaného sledě obecného ať již chlazeného, nebo zmrazeného, se nepodařilo koupit. Přehled všech parazitologicky vyšetřených ryb je uveden níže v tabulce č. 1.

Tab. 1 - Přehled parazitologicky vyšetřených ryb

Protokol č.	Název ryby	Technologické opracování	Datum vyšetření	Původ
1	Sleď obecný	uzený, nekuchaný	4.9.2017	Neuvedeno
2	Sleď obecný	uzený, nekuchaný	4.9.2017	Neuvedeno
3	Makrela obecná	chlazená, nekuchaná	4.9.2017	FAO 27
4	Makrela obecná	chlazená, nekuchaná	23.11.2017	FAO 27
5	Makrela obecná	chlazená, nekuchaná	23.11.2017	FAO 27
6	Sleď obecný	uzený, nekuchaný	23.11.2017	Neuvedeno
7	Sleď obecný	uzený, nekuchaný	23.11.2017	Neuvedeno
8	Makrela obecná	uzená, kuchaná	23.11.2017	Výrobce Blatenská ryba
9	Makrela obecná	uzená, kuchaná	23.11.2017	Výrobce Blatenská ryba
10	Sleď obecný	uzený, nekuchaný	28.11.2017	Neuvedeno
11	Sleď obecný	uzený, nekuchaný	28.11.2017	Neuvedeno
12	Makrela obecná	uzená, kuchaná	28.11.2017	Výrobce Blatenská ryba
13	Makrela obecná	uzená, kuchaná	28.11.2017	Výrobce Blatenská ryba
14	Makrela obecná	uzená, kuchaná	28.11.2017	Výrobce Blatenská ryba

Protokol č.	Název ryby	Technologické opracování	Datum vyšetření	Původ
15	Makrela obecná	uzená, kuchaňá	28.11.2017	Výrobce Blatenská ryba
16	Sleď obecný	Filet	12.12.2017	FAO 27.3
17	Sleď obecný	Filet	12.12.2017	FAO 27.3
18	Sleď obecný	Filet	12.12.2017	FAO 27.3
19	Sleď obecný	Filet	12.12.2017	FAO 27.3
20	Sleď obecný	Filet	12.12.2017	FAO 27.3
21	Sleď obecný	Filet	12.12.2017	FAO 27.3

3.2 Metody

3.2.1 Částečná parazitologická pitva

Všechny odebrané vzorky ryb byly před parazitologickým vyšetřením nejprve změřeny a zváženy. Poté byla provedena částečná parazitologická pitva se zaměřením na vnitřní orgány a svalovinu. Po odstranění stěny tělní, otevření břišní dutiny byla provedena advekce vnitřních orgánů. Makroskopicky viditelné larvy byly spočítány a podle pohybu ve vodě byly posouzeny, zda se jedná o larvy živé, nebo devitalizované. Celkový počet živých i uhynulých larev byl zaznamenán do protokolu. Všechny protokoly jsou součástí přílohy.

Pro parazitologické vyšetření trávicí metodou, byla odebrána svalovina (bez kostí) a zvláště vnitřní orgány. Odebrané vzorky byly pro lepší trávení nastříhány na menší kousky.

3.2.2 Trávicí metoda

3.2.2.1 Princip trávicí metody

Trávicí tekutina, která je složena z pitné vody, kyseliny chlorovodíkové a pepsinu imituje vnitřní prostředí žaludku, kdy dochází k natrávení svaloviny a uvolnění larev ze svaloviny.

Na základě Nařízení komise (ES) č. 2075/2005 ze dne 5. prosince 2005, kterým se stanoví zvláštní předpisy pro úřední kontroly trichinel v mase, se tato metoda rutinně používá ve veterinární praxi k diagnostice larev *Trichinella spiralis*, konkrétně se jedná o Přímou metodu zjišťování trichinel v čerstvém mase vyšetřením hromadných vzorků trávicí metodou s použitím magnetické míchačky. Jelikož larvy čeledi *Anisakidae* obdobně jako

larvy r. *Trichinella* mohou žít ve svalovině, byla tato metoda, jen s nepatrnými odchylkami od původní metodiky použita i k diagnostice larvální anisakidózy. Jedinými rozdíly oproti původní referenční metodě je zkrácení trávící doby na 15 minut a snížení trávící teploty na 37 °C [39].

Přímá metoda zjišťování trichinel v čerstvém mase vyšetřením hromadných vzorků trávící metodou s použitím magnetické míchačky:

1. Přístroje a zařízení, včetně technických a funkčních požadavků

Nůž, nůžky, pinzeta, Pasteurova pipeta

Váhy vážící s přesností alespoň 0,1 g

Mixér

Elektromagnetická míchačka s termostatem regulovanou topnou deskou

Magnetické míchadélko potažené teflonem

Digitální teploměr

Aluminiová folie

Stojany, kruhy, nálevky

Separční skleněné kuželové nálevky o objemu 1 - 2 l s teflonovým kohoutem

Sítka o velikosti oka 117 - 180 μ o vnějším průměru 11 cm z korozi-vzdorné oceli

Skleněné kádinky o objemu max. 3 l

Odměrky kónické se stupnicí o objemu 100 ml

Petriho misky

Lednice

2. Činidla

25% kyselina chlorovodíková

Pepsin o koncentraci 1 : 10 000 NF (US National Formulary) odpovídající 1 : 12 500 BP (British Pharmacopoea) a 2 000 FIP (Fédération Internationale de Pharmacie)

Pitná voda ohřátá na 46 - 48 °C

3. Pracovní postup

- $16 \pm 0,5$ ml 25% kyseliny chlorovodíkové se přidá do třílitrové kádinky obsahující 2,0 l vodovodní vody zahřáté na 37 °C; do kádinky se vloží míchací tyčinka, kádinka se umístí na předehřátou ploténku a zahájí se míchání
- přidá se $10 \pm 0,2$ g pepsinu
- pokrájené maso se vnese do třílitrové kádinky obsahující vodu, pepsin a kyselinu chlorovodíkovou
- kádinka se zakryje aluminiovou folií
- magnetickou míchačku je třeba nastavit tak, aby po celou dobu provozu udržovala konstantní teplotu 37 °C. Během míchání se musí trávicí tekutina otáčet v dostatečně vysokých otáčkách, aby vytvářela hluboký vír, ale nestříkala ven
- trávicí tekutina se míchá, nežli zmizí částičky masa (zhruba 15 minut). Poté se míchačka vypne a trávicí tekutina se přelije přes sítko do sedimentační nálevky
- proces trávení se považuje za uspokojivý, pokud na sítku nezůstane více než 5 % počáteční hmotnosti vzorku

3.3 Vyhodnocení a vyjádření výsledků

Po natrávení vzorku trávicí tekutinou a přelití přes sítko je určována přítomnost, či nepřítomnost larev anisakidů. Nenatrávené larvy, případně jejich části jsou viditelné pouhým okem na sítku. Počty nalezených larev jsou uvedeny v pracovních protokolech, které jsou součástí přílohy.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Z celkového počtu 21 kusů parazitologicky vyšetřených ryb byly larvy anisakidů zjištěny celkem u 9 kusů, 12 kusů bylo bez parazitologického nálezu. Z 9 kusů vyšetřených makrel obecných, byly larvy anisakidů zjištěny ve třech případech, 6 kusů bylo negativních. Sledů obecných bylo vyšetřeno celkem 12 kusů, první polovinu z tohoto počtu tvořily sledí filety s kůží. Z vyšetřených sledů obecných bylo celkem 6 kusů negativních, u 6 kusů byly zjištěny larvy anisakidů. Výsledky parazitologického vyšetření jsou uvedeny v tabulce č. 2.

Tab. 2 - Výsledky parazitologického vyšetření ryb

Druh ryby	Počet vyšetřených	Počet pozitivních	Počet negativních
Makrela obecná	9	3	6
Sled' obecný	12	6	6
Celkem	21	9	12

Parazitologickým vyšetřením byly ve všech vyšetřených chlazených makrelách nalezeny larvy anisakidů, dokonce ve všech případech byla část larev živých, to znamená, že při jejich případném pozření jsou schopné vyvolat i v našich podmínkách onemocnění anisakidózu. Na druhou stranu, všechny vyšetřené uzené kuchařské makrely byly parazitologicky negativní.

Všechny sledí filety s kůží byly parazitologicky negativní. Naopak u všech šesti vyšetřených nekuchařských uzených sledů byly nalezeny larvy anisakidů. Jednotlivé výsledky makroskopické metody, kde byla prokázána přítomnost, tak i nepřítomnost larev čeledi *Anisakidae* jsou uvedeny v tabulce č. 3 na další stránce.

Tab. 3 - Výsledky parazitologického vyšetření v souvislosti s technologickým opracováním

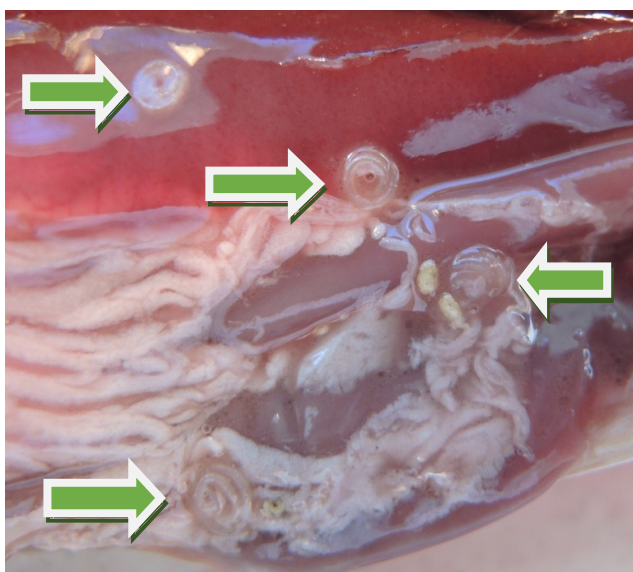
Název ryby	Technologické opracování	Výsledky vyšetření	Počet nalezených larev (živé/mrtvé)	Počet larev před/po trávení	Protokol č.
Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	chlazená, nekuchaná	pozitivní	13/4	-	3
Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	chlazená, nekuchaná	pozitivní	5/6	11/9	4
Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	chlazená, nekuchaná	pozitivní	28/4	4/4	5
Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	uzená, kuchaná	negativní	0/0	-	8
Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	uzená, kuchaná	negativní	0/0	-	9
Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	uzená, kuchaná	negativní	0/0	-	12
Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	uzená, kuchaná	negativní	0/0	-	13
Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	uzená, kuchaná	negativní	0/0	-	14
Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	uzená, kuchaná	negativní	0/0	-	15
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	filet	negativní	0/0	0/0	16
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	filet	negativní	0/0	0/0	17
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	filet	negativní	0/0	0/0	18
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	filet	negativní	0/0	0/0	19
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	filet	negativní	0/0	0/0	20
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	filet	negativní	0/0	0/0	21
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/21	21/1	1

Název ryby	Technologické zpracování	Výsledek vyšetření	Počet nalezených larev (živé/mrtvé)	Počet larev před/po trávení	Protokol č.
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/7	7/1	2
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/3	3/0	6
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/26	26/0	7
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/2	0/2	10
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/36	36/0	11

Larvy anisakidů u makrely obecné byly lokalizovány v naprosté většině na povrchu vnitřních orgánů, zejména na povrchu jater či gonád. Epidemiologicky závažný je nález živých larev anisakidů ve svalovině u jednoho kusu chlazené, nekuchané makrely, neboť i po vykuchání a odstranění vnitřních orgánů, larvy ve svalovině zůstanou.

Na obrázku č. 4 je fotograficky zachycen makroskopický nález živých a mrtvých larev r. *Anisakidae*. Larvy byly přítomny v makrele obecné *Scomber scombrus* - chlazená, nekuchaná. Jedná se o silný nález larev r. *Anisakidae* vyskytujících se na gonádách. Dále byla provedena trávicí metoda mrtvých a živých larev s vnitřními orgány a svalovinou.

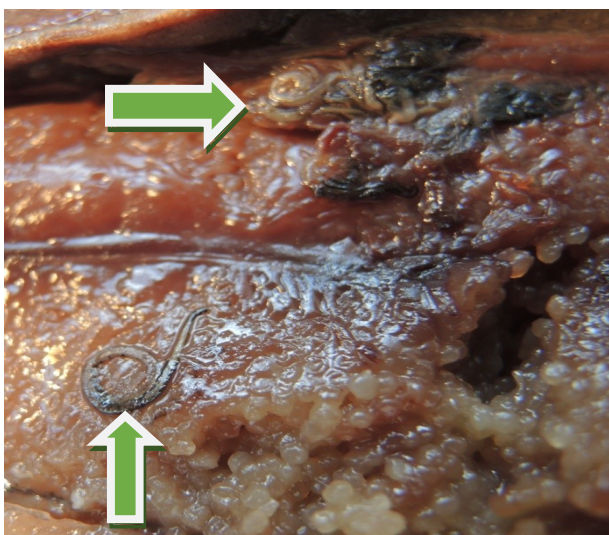
Obr. 4 - Makrela obecná chlazená - silný nález larev r. *Anisakidae* na gonádách



U sledů se larvy nalézaly nejčastěji na vnitřních orgánech a na serózách v okolí střeva, kde často tvořily shluky více jedinců. U dvou kusů byly nalezeny mrtvé larvy ve svalovině a u jednoho kusu v jikrách. V tomto případě i při odstranění všech nepoživatelných vnitřních orgánů při konzumaci takového sledě dojde k pozření larev, což může mít v některých případech za následek alergickou reakci.

Na obrázku č. 5 je fotograficky zachycen makroskopický nález mrtvých larev r. *Anisakidae*. Larvy se vyskytovaly ve sledi obecném *Clupea harengus* - uzený, nekuchaný a byly viditelné ve velkém shluku v oblasti jiker. Mrtvé larvy byly spolu s orgány a svalovinou dále podrobeny trávící metodě.

Obr. 5 - Sled' obecný uzený - masivní nález larev r. *Anisakidae* na jikrách



Níže v tabulce č. 4 jsou uvedeny údaje lokalizace larev jednotlivých vyšetřených mořských ryb.

Tab. 4 - Lokalizace larev anisakidů u pozitivních ryb

Název ryby	Technologické zpracování	Výsledek vyšetření	Počet nalezených larev (živé/mrtvé)	Lokalizace larev	Počet larev před/po trávení	Protokol č.
Makrela obecná	chlazená, nekuchaná	pozitivní	13/4	vnitřní orgány, svalovina	-	3
Makrela obecná	chlazená, nekuchaná	pozitivní	5/6	játra, gonády	11/9	4
Makrela obecná	chlazená, nekuchaná	pozitivní	28/4	vnitřní orgány	4/4	5

Název ryby	Technologické opracování	Výsledek vyšetření	Počet nalezených larev (živé/mrtvé)	Lokalizace larev	Počet larev před/po trávení	Protokol č.
Sleď obecný	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/21	serózy v okolí střev, jikry	21/1	1
Sleď obecný	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/7	shluk larev v okolí střeva	7/1	2
Sleď obecný	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/3	vnitřní orgány	3/0	6
Sleď obecný	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/26	vnitřní orgány, svalovina	26/0	7
Sleď obecný	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/2	svalovina	0/2	10
Sleď obecný	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/36	vnitřní orgány	36/0	11

Trávicí metodou bylo vyšetřeno celkem 21 ks ryb, z toho 3 kusy chlazené nekuchané makrely, 6 kusů uzené kuchané makrely, 6 kusů uzených nekuchaných sledů a 6 kusů sledích filetů. U třech chlazených makrel a u všech uzených sledů byly při částečné parazitologické pitvě nalezeny larvy čeledi *Anisakidae*. U žádného vzorku ze sledích filetů a makrely uzené kuchané, larvy nalezeny nebyly.

U jedné makrely bylo při parazitologickém vyšetření nalezeno celkem 11 kusů larev, z toho pět živých. Všechny jedenáct larev bylo společně se svalovinou vyšetřeno trávicí metodou. Po vyšetření trávicí metodou bylo nalezeno 9 kusů larev. U druhé makrely byly k vyšetřovaným tkáním přidány 4 živé larvy. Po vyšetření trávicí metodou byli nalezeni všechny čtyři jedinci. Ve třetím vzorku makrely bylo nalezeno celkem 17 larev. Po vyšetření trávicí metodou nebyla nalezena žádná larva. V případě živých, nebo uhynulých larev v chlazených rybách je úspěšnost trávicí metody velmi vysoká. Na další straně jsou v tabulce č. 5 uvedeny výsledky trávicí metody u chlazené makrely.

Tab. 5 - Výsledky trávící metody u chlazené makrely obecné (*Scomber scombrus*)

Název ryby	Technologické zpracování	Výsledek vyšetření	Počet nalezených larev (živé/mrtvé)	Počet larev před/po trávení	Protokol č.
Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	chlazená, nekuchaná	pozitivní	4/13	-	3
Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	chlazená, nekuchaná	pozitivní	28/4	4/4	5
Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	chlazená, nekuchaná	pozitivní	5/6	11/9	4
Celkem			37/23	15/13	

Všech šest sledích filetů s kůží, které byly při parazitologickém vyšetření negativní, bylo bez parazitologického nálezu i po vyšetření trávící metodou. V šesti uzených, nekuchaných sledích při parazitologickém vyšetření bylo nalezeno celkem 95 larev, všechny byly uhynulé. Po vyšetření trávící metodou, kdy procesem trávení prošlo minimálně 95 larev, byly nalezeny pouze dva kusy larev. Všechny ostatní kusy byly natráveny. Je tedy zřejmé, že pro průkaz uhynulých larev v tepelně zpracovaných výrobcích je trávící metoda nepoužitelná. Výsledky vyšetření trávící metodou jsou patrné z tabulky č. 6.

Tab. 6 - Výsledky trávící metody u sledě obecného (*Clupea harengus*) a sledích filetů

Název ryby	Technologické zpracování	Výsledek vyšetření	Počet nalezených larev (živé/mrtvé)	Počet larev před/po trávení	Protokol č.
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/21	21/1	1
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/7	7/1	2
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/3	3/0	6

Název ryby	Technologické zpracování	Výsledek vyšetření	Počet nalezených larev (živé/mrtvé)	Počet larev před/po trávení	Protokol č.
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/26	26/0	7
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/2	2/0	10
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	uzený, nekuchaný	pozitivní	0/36	36/0	11
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	filet	negativní	0/0	0/0	16
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	filet	negativní	0/0	0/0	17
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	filet	negativní	0/0	0/0	18
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	filet	negativní	0/0	0/0	19
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	filet	negativní	0/0	0/0	20
Sleď obecný (<i>Clupea harengus</i>)	filet	negativní	0/0	0/0	21
celkem			0/95	95/2	

Trávicí metoda byla použita z důvodu, protože se larvy kromě vnitřních orgánů, nacházejí také ve svalovině, podobně jako r. *Trichinella*. Tato metoda byla popsána k použití u anisakidů. Přítomnost larev byla prokázána v makrele obecné *Scomber scombrus* - chlazená, nekuchaná a ve sledi obecném *Clupea harengus* - uzený, nekuchaný.

Na základě námi dosažených výsledků tímto výzkumem, je možné konstatovat, že vliv na výskyt larev čeledi *Anisakidae* v mořských rybách vyskytujících se v tržní síti České republiky může mít technologické opracování mořských ryb. Larvy byly přítomny pouze v rybách nekuchaných.

Možným rizikem konzumace při pozření živých larev, které byly přítomny v makrele obecné *Scomber scombrus* - chlazená, nekuchaná, je projev onemocnění anisakidóza, nebo případně u citlivých osob vyvolání alergické reakce. Maloobchodní tržní sítě, kde byly ryby zakoupené jako například sled' uzený nekuchaný, bohužel nenabízí spotřebiteli uzeného sledě kuchaného, což je pro milovníka uzenáčů problém, protože největší lahůdkou z uzenáče jsou jikry.

K podobným závěrům dospěli i další studie, kdy například na nález nematodů poukázal již v roce 1955 Chaloupecký [6]. Jednalo se o dovezenou zásilku mražených sled'ů z Norska. Prokázal 60% incidenci, kde u některých ryb bylo v dutině tělní až 24 larev. Larvy byly nacházeny na gonádách, především na jikrách, méně na mlíčí. Konečný v roce 1976 informoval o nálezech vývojových stádií *Anisakis marina* u konzervovaných tresčích jater v oleji, vyrobených v SSSR a v Norsku. Parenchym jater byl silně zbytnělý a na jejich povrchu se nacházela světle šedá, spirálovitě zatočená nitkovitá těla parazitů. Přestože se uvádí, že tento druh invazivních larev je pro člověka neadaptabilní, je známo, že po opakovaném požití živých larev dochází k jejich zavrtání do sliznice žaludku a střev konzumenta a vyvolání onemocnění anisakiázy. Další případ hlášení výskytu těchto larev na českém trhu byl v roce 2011 [8]. Jednalo se o zásilku 5 000 kg mražených celých ryb - sled'ů původem z Norska. Surovina měla být zpracována na uzené sledě. Podobně tak i nedávno, v roce 2016 [9] ministerstvo zdravotnictví varovalo před konzumací výrobku „losos divoký uzený - kousky“, který obsahoval parazitického červa *Anisakis simplex*.

Autoři Johnson a Mawson [40] popsali 32 druhů larev čeledi *Anisakidae* a to již v roce 1910 v Austrálii. Později bylo zjištěno, že některé druhy byly popsány špatně. Markantní výskyt larev r. *Anisakidae* v mořských rybách, vede k velkým ekonomickým ztrátám v průmyslu. Nejenže se hlístice rodu *Anisakidae* vyskytují v mořských rybách, ale také byla prokázána přítomnost u volně žijících živočichů a to například v ptácích, psech a prasatech, kteří byli krmeni nakaženými rybami.

Další vědecká studie byla věnována trhu Granada [41], nacházející se v jižním Španělsku. Tento trh byl vhodný pro průzkum, jelikož se jedná o důležité centrum distribuce

mořských ryb př. kranas obecný *Trachurus trachurus*. Rod *Anisakidae* byl prokázán ve 142 ks ryb kranase obecného z celkového počtu 360 ks zkoumaných mořských ryb.

V Čínské lidové republice ve městě Šan-tchou [42], byl zkoumán výskyt larev r. *Anisakidae* v náhodně shromážděných mořských rybách v období od února do prosince roku 2013. Zkoumané ryby byly určeny k prodeji. K výzkumu bylo celkem 382 ryb z toho 52 druhů. Ve 42 z 52 druhů byly nalezeny larvy *Anisakis simplex*. Nejvíce pozorovaných larev bylo u ryb - makrela *Scomber australasicus*, kranas japonský *Trachurus japonicus*, *Nemipterus bathybius*, *Mene maculata*. Larvy nebyly vůbec zjištěny v těchto rybách *Megalaspis cordyla*, chňapal stříbroskvrnný *Lutjanus argentimaculatus*, chňapal černoskvrnný *Lutjanus fulviflamma*, *Acanthopagrus australis*. Nejvíce parazitů bylo zjištěno u ryb s tělesnou hmotností 100 - 200 g, oproti rybám s tělesnou hmotností 300 - 400 g, ve kterých byl výskyt larev r. *Anisakidae* zjištěn častěji.

Mezi mořské rybí pokrmy a speciality řadíme sushi a sashimi, které jsou připravovány z drahých mořských ryb. Běžně se s nimi můžeme setkat při pobytu v zahraničí. Málodko ale ví, že tyto pokrmy mohou být pro nás rizikové. Ve většině zemí jsou schváleny právní předpisy, které říkají a doporučují, jak má být s mořskými rybami určenými ke konzumaci nakládáno. Například americký úřad pro potraviny a léčiva doporučuje mořské ryby určené k syrové spotřebě uchovat při teplotě - 35 °C po dobu 15 hodin, nebo při teplotě - 20 °C po dobu 7 dnů. Stejně tak i v Evropské unii - Analýza rizika a kritických kontrolních bodů, kdy ryby určené k syrové konzumaci by měly být zmrazeny na méně než - 20 °C po dobu delší než 24 hodin. Existuje ale ještě stále mnoho zemí, které v dnešní době tyto legislativní předpisy nemají zavedeny [43]. Z evropských států, kde je nejvíce hlášena incidence anisakiasis je Španělsko, které je proslulé místním jídlem "boquerones en vinaigre". Alergické reakce mohou být způsobeny kontaminanty, které jsou obsažené v potravinách. Může dojít k vytvoření tzv. senzibilace, což je vznik přecitlivělosti na určitou látku. K senzibilaci dochází při opakovaném vystavení expozice. U lidí se může projevit astmatický záchvat, ekzém, kopřivka. *Anisakis simplex* může snadno zamořit mořské plody. Alergické symptomy se u lidí poté mohou projevit po konzumaci těchto jídel, anebo po manipulaci s napadenými rybami. Byl proveden výzkum sér 8 pacientů, u kterých byla dříve diagnostikována simplexní senzibilace, poté co jedli kuřecí maso. K výzkumu byla dále získána séra kuřat, která byla krmena rybí moučkou. V séru byly přítomny proteiny *Anisakis simplex*. Další séra byla získaná z kuřat, která byla krmena pouze obilovinami. Sérologickou metodou byla vyloučena senzibilace na jiného parazita.

Při použití sér z kuřat krmených rybí moučkou jako antigenem westernovým přenosem, byla u pacientů rozpoznána přítomnost protilátky. Nebyla pozorována žádná detekce u sér použitých z kuřat krmených pouze obilovinami. Důkazy jsou založené na testech *in vivo* a *in vitro*. Příznaky senzibilace u pacientů vymizely, jakmile vyřadili ze svého jídelníčku kuřecí maso pocházející z kuřat, která byla krmena rybí moučkou. Rybí moučka je uznávaná odborníky na výživu zvířat jako vynikající zdroj proteinů a je součástí komerční stravy pro drůbež, dojnice a ryby. Rybí moučka se vyrábí hlavně z drobů ryb zpracovaných v rybářských lodích - mletím, lisováním, vařením a sušením mořských ryb.

Moneo et al [44] v roce 1998 popsal izolaci významného alergenu parazita ryb *Anisakis simplex*. Dospěl k závěru, že *Anisakis simplex* obsahuje alergen 24 kd (nyní pojmenovaný Ani s 1) ve vylučovacích žlázách. Toto zjištění by mohlo mít velký význam u pacientů, trpících klinickými příznaky angioedému. Angioedém je otok, který může vzniknout na různých místech organismu - podkoží obličeje, sliznice dýchacího a trávicího ústrojí, ale také může způsobit životu ohrožující komplikace. V současné době je pro všechny pacienty, trpící alergií na *Anisakis simplex* doporučena strava vylučující příjem mořských ryb a plodů moře.

Alonso et al. [15] chtěli potvrdit, že pacienti, kteří mají klinické příznaky (gastro alergie) po požití syrového, nebo nedostatečně tepelně upraveného masa mořských ryb či pokrmů, mohou konzumovat tyto produkty, pokud parazité jsou mrtví a tedy neinfekční. Vzorky *Anisakis simplex* o velikosti 2 cm byly odebrány a umístěny do mikrozkušavek. Mikrozkušavky se vzorky byly zmrazeny při teplotě - 20 °C po dobu déle než 48 hodin, aby larvy nebyly infekční. Pacientům byly poté podávány tyto vzorky ke konzumaci. Výzkumu se zúčastnilo 5 pacientů. Každý pacient měl celkem 11 vzorků. Po 6 měsících konzumace hluboce zmražených mořských plodů s neinfekční *Anisakis simplex* se reakce pacientů vyhodnotily. Reakce se neprojevila u žádného z pacientů. Lze tedy konstatovat, že pacienti s tímto onemocněním jsou tolerantní k hluboko zmraženým mořským plodům obsahujícím mrtvé / neinfekční parazity.

ZÁVĚR

Důvodem a cílem, proč jsem se rozhodla psát diplomovou práci na toto téma, bylo poukázat na možná rizika konzumace mořských ryb a jejich specialit, které jsou u nás na tržní síti v České republice běžně dostupné. Nejen, že se s tímto rizikem konzumace mořských ryb můžeme setkat u nás, ale především v zahraničí v přímořských státech, kde jsou tyto mořské ryby velmi snadno dostupné jako místní speciality.

Schválená legislativní opatření proti parazitům v mořských rybách jsou zapracována do národní a evropské legislativy. V České republice jsou laboratoře Zdravotního ústavu, které zkoumají výskyt larev čeledi *Anisakidae* v mořských rybách. V zahraničí se o tomto potencionálním riziku hovoří více než u nás. I přesto v dnešní době ještě stále existují státy, ve kterých toto právní opatření není zavedeno. Konzumace místních pokrmů a specialit může být právě z tohoto důvodu riziková.

K analýze bylo použito 21 reprezentativních vzorků mořských ryb (makrela obecná, sled' obecný), které byly zakoupeny v maloobchodní tržní síti České republiky. K analýze byly použity vnitřní orgány a kosterní svalovina, kromě ploutví.

Zjednodušený postup analýzy byl založen na makroskopickém pozorování larev čeledi *Anisakidae* s následným provedením trávicím metody. Během makroskopického pozorování byla zjištěna přítomnost larev čeledi *Anisakidae* u makrely obecné *Scomber scombrus*, která byla z technologického hlediska chlazená, nekuchaná. Ve třech vzorcích mořských ryb byly zjištěné živé a mrtvé larvy. Druhým pozorovaným druhem mořské ryby, kde byla makroskopickým pozorováním zjištěna přítomnost larev čeledi *Anisakidae*, byl sled' obecný *Clupea harengus*. Z technologického hlediska se jednalo o rybu uzenou, nekuchanou. V šesti vzorcích se vyskytovaly pouze mrtvé larvy. Larvy byly v jednom případě přítomny ve svalovině, což je z hlediska epidemiologického velmi významné. Během použití trávicím metody, jsme došli ke zjištění, kdy mrtvé larvy, které byly tráveny, se vytrávily, tzn. po dostatečné době trávení, nebyly nalezeny na sítku. Přítomnost larev čeledi *Anisakidae* nebyla prokázána u makrely obecné *Scomber scombrus*, technologicky opracovaný rybí výrobek - kuchaná, uzená a sled' obecného *Clupea harengus*, technologicky opracovaný rybí výrobek - rybí filet.

Nakažení lze zabránit tak, že se vyhneme konzumaci mořských ryb pocházejících z oceánů a moří, kde je velmi velká pravděpodobnost nakažení ryb tímto parazitem. Vyvarování se různých rybích specialit, jako je sushi, sashimi, bagoong či boqueron en vinagre.

Anisakis simplex se může u citlivých jedinců projevit i jako alergen. Projev alergických reakcí v podobě ekzému, kopřivky či astmatu. Proto je velmi důležité dbát na to, co konzumujeme.

Mezi prevencí bych zařadila vyhledávání a konzumování mořských ryb pocházejících z akvakultury. U takto chovaných ryb hlístice čeledi *Anisakidae* nebyly doposud prokázány. Dalším preventivním opatřením je dodržování teplot hlubokým zmrazením - 20 °C po dobu minimálně 24 hodin. Během tepelné úpravy, aby bylo dosaženo v jádře rybí svaloviny minimálně 70 °C. U marinovaných ryb dodržet, dosažení rovnoměrného pH nálevu 4,2 v celé svalovině. Dalším možným ochranným krokem je konzumace technologicky opracovaného rybího masa, a to kuchařského či filetovaného. Dále by měly být dodržovány přísnější podmínky správné hygienické a výrobní práce a spolu s nimi i dodržování HACCP.

K faktorům ovlivňujících přítomnost larev čeledi *Anisakidae* v mořských rybách patří oblast lovu a vliv technologického opracování. Stanovené výsledky jsou převážně v souladu s údaji uvedenými v odborné literatuře.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BUCHMANN, K. a F. MEHRDANA. Effects of anisakid nematodes *Anisakis simplex* (s.l.) *Pseudoterranova decipiens* (s.l.) and *Contracaecum osculatum* (s.l.) on fish and consumer health. *Food and Waterborne Parasitology*. 2016, (4), 13 - 22.
- [2] MEHLHORN, H. *Encyklopedia of Parasitology*. 4. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2008. ISBN ISBN 978-3-662-43979-1.
- [3] POZIO, E. Integrating animal health surveillance and food safety: the example of *Anisakis*. *Coordinating surveillance policies in animal health and food safety 'from farm to fork' Scientific and Technical Review*. 2013, (32 (2)), 487 - 496.
- [4] BAKER, J.A. Causes of mortality and parasites and incidental lesions in dolphins and whales from British waters. *Department of Veterinary Pathology*. 1992, (130(26)), 569-572.
- [5] *Vývojový cyklus* [online]. In: . [cit. 2018-09-10]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/figure/The-life-cycle-of-Anisakis-simplex-Adapted-from-Anderson-2000_fig4_267925838
- [6] HOCHBERG, N. S., D. H. HAMER, J. M. HUGHES a M. E. WILSON. Anisakidosis: Perils of the Deep. *Clinical Infectious Diseases*. 2010, (51(7)), 806-812. DOI: 10.1086/656238.
- [7] KONEČNÝ, S. Nálezy cizopasníků rodu *Anisakis* u importovaných mořských ryb. *Veterinářství*. 1997, (11/97), 474-475.
- [8] Ritter, J. 2001. "Anisakis simplex" (On-line), Webový portál Animal Diversity Web. Přístup k dubnu 14, 2019 na adrese https://animaldiversity.org/accounts/Anisakis_simplex/
- [9] https://www.svscr.cz/zachytili_jsme_slede_s_parazity/ čerpáno dne 10.1.2019
- [10] <https://www.novinky.cz/ekonomika/411774-v-uzenem-lososovi-z-albertu-byl-nebezpecny-parazit-retezec-se-omluvil.html> čerpáno dne 10.1.2019
- [11] AUDICIANA, M.T., M.D. DEL POZO, R. IGLESIAS a F.M. UBEIRA. *Anisakis simplex* and *Pseudoterranova decipiens*. MILIOTIS, Marianne D. a Jeffrey W. BIEF. *International Handbook of Foodborne Pathogens*. Boca Raton: CRC Press, 2003. ISBN 9781135543785.
- [12] BUCHMANN, K. a F. MEHRDANA. Effects of anisakid nematodes *Anisakis simplex* (s.l.) *Pseudoterranova decipiens* (s.l.) and *Contracaecum osculatum* (s.l.) on fish and consumer health. *Food and Waterborne Parasitology*. 2016, (4), 13 - 22.
- [13] AUDICIANA, Teresa M. a Malcolm W. KENNEDY. *Anisakis simplex*: from Obscure Infectious Worm to Inducer of Immune Hypersensitivity. *Clinical microbiology reviews*. 2008, (21(2)), 360-379.
- [14] COUTURE, Ch., L. MEASURES a J. GAGNON. Human Intestinal Anisakiosis Due to Consumption of Raw Salmon. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2003, 27(8), 1167-1172.

- [15] ALONSO, A., A. MORENO-ANCILLO, A. DASCHNER a M.C. LÓPEZ-SERRANO. Dietary assessment in five cases of allergic reactions due to gastroallergic anisakiasis. *Allergy*. 1999, **54**(5), 517-520.
- [16] FERNÁNDEZ DE CORRES, L., M. AUDICANA, M.D. DEL POZO, D. MUNOZ a E. FERNÁNDEZ. Anisakis simplex induces not only anisakiasis: report 28 cases of allergy caused by this nematode. *J. Investing Allergol Clin Immunol*. 1996, **6**(5), 315-319.
- [17] SAKANARI, J. A. a J. H. MCKERROW. Anisakiasis. *Clinical microbiology reviews*. 1989, **2**(3), 278-284.
- [18] BILSKA-ZAJAC, E., M. RÓZYCKI, E. CHMURZYŃSKA, J. KARAMON, J. SROKA, M. KOCHANOWSKI, P. KUSYK a T. CENCEK. Parasites of Anisakidae Family - Geographical Distribution and Threat to Human Health. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 2015, **5**, 146-152.
- [19] PACIOS, E., J. ARIAS-DIAZ, J. ZULOGA, J. GONZALEZ-ARMENGOL, P. VILLARROEL aj. L. BALIBREA. Albendazole for the Treatment of Anisakiasis Ileus. *Clinical Infectious Diseases*. 2005, **41**(12), 1825-1826.
- [20] FRAULO, P., C. MORENA a A. COSTA. Recovery of Anisakid larvae by means of chloro-peptic digestion and proposal of the method for the official control. *Acta Parasitologica*. 2014, **59**(4), 629-634.
- [21] PIPOVÁ M., a kolektiv, 2006: *Hygiena a technologia spracovania sladkovodných a morských ryb*. Univerzita veterinárskeho lekárstva v Košiciach., ISBN 80-8077-048-4
- [22] <http://eagri.cz/public/web/mze/ministerstvo-zemedelstvi/zahranicni-vztahy/mezinarodni-organizace/organizace-osn-pro-vyzivu-a-zemedelstvi.html> čerpáno dne (17.11.2018)
- [23] FAO. /Assessment and Management of Seafood Safety and Quality.“ Fisheries and Aquaculture Department Accessed February 1, 2018
<http://www.fao.org/3/a-i3215e.pdf>
- [24] Nařízení Komise (ES) č. 1276/2011, kterým se mění příloha III. Nařízení (ES) č. 853/2001, pokud jde o ošetření produktů rybolovu určených k lidské spotřebě za účelem usmrcení životaschopných parazitů; dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX%3A32011R1276>
- [25] Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č.853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu; dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32004R0853>
- [26] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1379/2013 ze dne 11. prosince 2013 o společné organizaci trhů s produkty rybolovu a akvakultury a o změně nařízení Rady (ES) č. 1184/2006 a (ES) č. 1224/2009 a o zrušení nařízení Rady (ES) č. 104/2000;

dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013R1379&from=LV>

[27] Vyhláška č. 134/2014 Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 290/2008 Sb., o veterinárních požadavcích na živočichy pocházející z akvakultury a na produkty akvakultury, opatřeních pro předcházení a zdočování některých nákaz vodních živočichů, ve znění vyhlášky č.59/2013 Sb.; dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2014-134>

[28] Vyhláška č. 69/2016 Sb. Vyhláška o požadavcích na maso, masné výrobky, produkty rybolovu a akvakultury a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich; dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-69>

[29] Vyhláška č. 366/2005 Sb. o požadavcích vztahujících se na některé zmrazené potraviny; dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2005-366>

[30] Zákon č. 99/2004 Sb., o rybníkářství, výkonu rybářského práva, rybářské strážní, ochraně mořských rybolovných zdrojů a o změně některých zákonů (zákon o rybářství); dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-99>

[31] BUCHTOVÁ, H. *Hygienu a technologie produktů rybolovu*. 2012. Ediční středisko veterinární a farmaceutické univerzity: Brno, 2012. ISBN 978-80-7305-660-5.

[32] INGR, I. *Jakost a zpracování ryb*. 2010. Ediční středisko Mendelovy univerzity: Brno, 2010. ISBN 978-80-7375-382-5.

[33] KOBZEVOVÁ I., RAMBOUSKOVÁ L., ŘÍHOVÁ A., 2013: *Vliv nekvalitně zpracované suroviny na kvalitu výrobku* [online]. [vid. 2019-01-01]. Dostupné z: <http://www.souhorky.cz/uploads/mediafiles/143/4554.pdf>

[34] VÁCHA, F. a P. VEJSADA. *Zpracování ryb*. 1. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2013. ISBN 978-80-87437-52-0.

[35] MERTRN, M. *Zpracování ryb*. 2. Praha: Informatorium, 2012. ISBN 978-80-7333-094-1.

[36] BUCHTOVÁ H., 2001: *Hygienu a technologie zpracování ryb a ostatních vodních živočichů: Alimentární onemocnění z ryb*; Mrazírenství. Brno: Ediční středisko Veterinární a farmaceutické univerzity, 164 s., ISBN 80-7305-401-9

[37] PIPEK, P. a D. JIROTKOVÁ. *Hodnocení jakosti, zpracování a zbožiznalství živočišných produktů Část III: Hodnocení a zpracování masa, drůbeže, vajec a ryb*. 3. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2001. ISBN 8070404906 9788070404904.

[38] http://www.asociacerr.cz/download/rybarsky-sektor3/Modul_2_choroby_ryb_II_Pt1.pdf Čerpáno dne: 12.12.2018

[39] United Kingdom Anisakis Reference Laboratory: Code of Practice/Guidance Document. *Cefas*. 2015, 32(1), 1-31.

- [40] SHAMSI, Shokoofeh. Recent advances in our knowledge of Australian anisakid nematodes. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. 2014, (3), 178-187.
- [41] ADROHER, F.J., A. VALERO, J. RUIZ-VALERO a L. IGLESIAS. Larval anisakids (Nematoda: Ascaridoidea) in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) from the fish market in Granada, Spain. *Parasitology Research*. 1996, (82), 253-256.
- [42] CHEN, J.H., J.Y. HUANG a J.J. LIANG. Anisakis simplex larvae: infection status in marine fishes for sale in Shantou. *Chinese journal of parasitology & parasitic diseases* [online]. 2014, 32(3), 212-216 [cit. 2019-04-25]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25223058>
- [43] NAWA, Y., Ch. HATZ aj. BLUM. Sushi Delights and Parasites: The Risk of Fishborne and Foodborne Parasitic Zoonoses in Asia. *Clinical Infectious Diseases*. 2005, 41(9), 1297-1303.
- [44] ARMENTIA, A., F.J. MARTÍN-GIL, C. PASCUAL, M. MARTÍN-ESTEBAN, A. CALLEJO a C. MARTÍNEZ. Anisakis allergy after eating chicken meat. *Journal of investigational allergology & clinical immunology*. 2006, 16(4), 258-263.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 - Schematické znázornění diagnosticky důležitých částí trávicí soustavy anisakidních hlístic	14
Obr. 2 - Vývojový cyklus čeledi <i>Anisakidae</i>	15
Obr. 3 - Geografické rozložení případů Anisakidózy	17
Obr. 4 - Makrela obecná chlazená - silný nález larev r. <i>Anisakidae</i> na gonádách	35
Obr. 5 - Sled' obecný uzený - masivní nález larev r. <i>Anisakidae</i> na jikrách	36
Obr. 6 - Sled' obecný uzený - nález larvy r. <i>Anisakidae</i> v dutině břišní	52
Obr. 7 - Makrela obecná chlazená - nález na játrech	52
Obr. 8 - Larvy čeledi <i>Anisakidae</i> z natráveného vzorku sledě obecného - uzeného	53

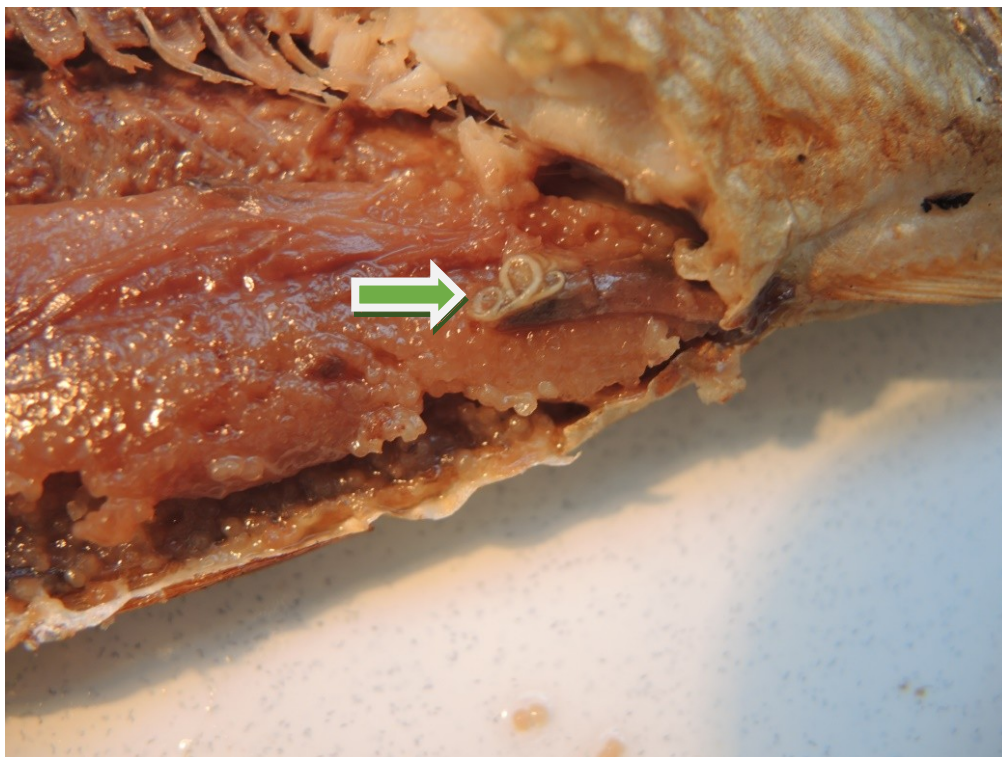
SEZNAM TABULEK

Tab. 1- Přehled parazitologicky vyšetřených ryb	29
Tab. 2 - Výsledky parazitologického vyšetření ryb	33
Tab. 3 - Výsledky parazitologického vyšetření v souvislosti s technologickým opracováním	34
Tab. 4 - Lokalizace larev čeledi <i>Anisakidae</i> u pozitivních ryb	36
Tab. 5 - Výsledky trávící metody u chlazené makrely (<i>Scomber scombrus</i>)	38
Tab. 6 - Výsledky trávící metody u sledě obecného (<i>Clupea harengus</i>) a sledích filetů	38
Tab. 7 - Protokol č. 1 Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)	54
Tab. 8 - Protokol č. 2 Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)	54
Tab. 9 - Protokol č. 3 Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	55
Tab. 10 - Protokol č. 4 Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	55
Tab. 11 - Protokol č. 5 Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	56
Tab. 12 - Protokol č. 6 Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)	56
Tab. 13 - Protokol č. 7 Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)	57
Tab. 14 - Protokol č. 8 Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	57
Tab. 15 - Protokol č. 9 Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	58
Tab. 16 - Protokol č. 10 Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)	58
Tab. 17 - Protokol č. 11 Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)	59
Tab. 18 - Protokol č. 12 Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	59
Tab. 19 - Protokol č. 13 Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	60
Tab. 20 - Protokol č. 14 Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	60
Tab. 21 - Protokol č. 15 Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)	61
Tab. 22 - Protokol č. 16 Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)	61
Tab. 23 - Protokol č. 17 Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)	62
Tab. 24 - Protokol č. 18 Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)	62

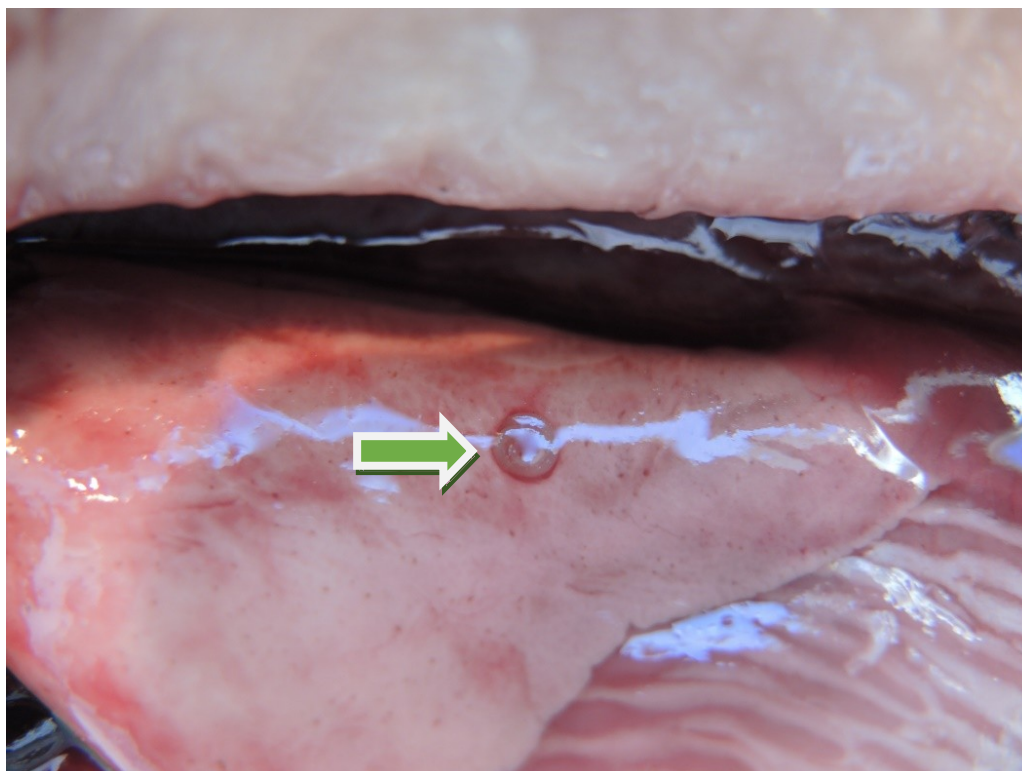
Tab. 25 - Protokol č. 19 Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)	63
Tab. 26 - Protokol č. 20 Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)	63
Tab. 27 - Protokol č. 21 Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)	64

PŘÍLOHY

Obr. 6 - Sled' obecný uzený - nález larvy r. Anisakidae v dutině břišní



Obr. 7 - Makrela obecná chlazená - nález na játrech



Obr. 8 - Larvy čeledi Anisakidae z natráveného vzorku sledě obecného - uzeného



PŘÍLOHA:

Tab. 7 - Protokol č. 1 Sled' obecný (*Clupea harengus*)

Název ryby	Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)
Celková délka	36 cm
Hmotnost	238 g
Datum zakoupení/vyšetření	4.9.2017
Technologické opracování	Uzená, nekuchaná
Oblast lovu	-
Popis	Uzená ryba s typickou vůní
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	0/21
Lokalizace larev	Serózy v okolí střev, jikry
Počet larev před/po trávení	21/1

Tab. 8 - Protokol č. 2 Sled' obecný (*Clupea harengus*)

Název ryby	Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)
Celková délka	36 cm
Hmotnost	250 g
Datum zakoupení/vyšetření	4.9.2017
Technologické opracování	Uzená, nekuchaná
Oblast lovu	-
Popis	Uzená ryba s typickou vůní
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	0/7
Lokalizace larev	Shluk larev v okolí střeva
Počet larev před/po trávení	7/1

Tab. 9 - Protokol č. 3 Makrela obecná (*Scomber scombrus*)

Název ryby	Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)
Celková délka	32 cm
Hmotnost	323 g
Datum zakoupení/vyšetření	4.9.2017
Technologické opracování	Chlazená, nekuchaná
Oblast lovu	FAO 27
Popis	Vnitřní orgány rozbředlé, zápachající
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	13/4
Lokalizace larev	Napadeny vnitřní orgány, svalovina
Počet larev před/po trávení	-

Tab. 10 - Protokol č. 4 Makrela obecná (*Scomber scombrus*)

Název ryby	Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)
Celková délka	32 cm
Hmotnost	357 g
Datum zakoupení/vyšetření	23.11.2017
Technologické opracování	Chlazená, nekuchaná
Oblast lovu	FAO 27
Popis	Čerstvá ryba s typickou vůní
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	5/6
Lokalizace larev	Játra, gonády
Počet larev před/po trávení	11/9

Tab. 11- Protokol č. 5 Makrela obecná (*Scomber scombrus*)

Název ryby	Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)
Celková délka	31 cm
Hmotnost	314 g
Datum zakoupení/vyšetření	23.11.2017
Technologické opracování	Chlazená, nekuchaná
Oblast lovu	FAO 27
Popis	Čerstvá ryba s typickou vůní
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	28/4
Lokalizace larev	Shluk larev pouze na jednom místě vnitřních orgánů
Počet larev před/po trávení	32/8

Tab. 12 - Protokol č. 6 Sled' obecný (*Clupea harengus*)

Název ryby	Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)
Celková délka	27,5 cm
Hmotnost	224 g
Datum zakoupení/vyšetření	23.11.2017
Technologické opracování	Uzená, nekuchaná
Oblast lovu	-
Popis	Uzená ryba s typickou vůní
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	0/3
Lokalizace larev	Vnitřní orgány
Počet larev před/po trávení	3/0

Tab. 13 - Protokol č. 7 Sled' obecný (*Clupea harengus*)

Název ryby	Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)
Celková délka	30 cm
Hmotnost	328 g
Datum zakoupení/vyšetření	23.11.2017
Technologické opracování	Uzená, nekuchaná
Oblast lovu	-
Popis	Uzená ryba s typickou vůní
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	0/26
Lokalizace larev	Vnitřní orgány, svalovina
Počet larev před/po trávení	26/0

Tab. 14 - Protokol č. 8 Makrela obecná (*Scomber scombrus*)

Název ryby	Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)
Celková délka	31 cm
Hmotnost	194 g
Datum zakoupení/vyšetření	23.11.2017
Technologické opracování	Uzená, kuchaaná
Oblast lovu	Výrobce Blatenská ryba
Popis	Uzená ryba s typickou vůní
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	0/0
Lokalizace larev	-
Počet larev před/po trávení	0/0

Tab. 15 - Protokol č. 9 Makrela obecná (*Scomber scombrus*)

Název ryby	Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)
Celková délka	31 cm
Hmotnost	238 g
Datum zakoupení/vyšetření	23.11.2017
Technologické opracování	Uzená, kuchaňá
Oblast lovu	Výrobce Blatenská ryba
Popis	Uzená ryba s typickou vůní
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	0/0
Lokalizace larev	-
Počet larev před/po trávení	0/0

Tab. 16 - Protokol č. 10 Sled' obecný (*Clupea harengus*)

Název ryby	Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)
Celková délka	33 cm
Hmotnost	260 g
Datum zakoupení/vyšetření	28.11.2017
Technologické opracování	Uzená, nekuchaňá
Oblast lovu	-
Popis	Uzená ryba s typickou vůní
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	0/2
Lokalizace larev	Svalovina
Počet larev před/po trávení	2/0

Tab. 17 - Protokol č. 11 Sled' obecný (*Clupea harengus*)

Název ryby	Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)
Celková délka	33,5 cm
Hmotnost	262 g
Datum zakoupení/vyšetření	28.11.2017
Technologické opracování	Uzená, nekuchaná
Oblast lovu	-
Popis	Uzená ryba s typickou vůní
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	0/36
Lokalizace larev	Orgány
Počet larev před/po trávení	0/0

Tab. 18 - Protokol č. 12 Makrela obecná (*Scomber scombrus*)

Název ryby	Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)
Celková délka	32 cm
Hmotnost	239 g
Datum zakoupení/vyšetření	28.11.2017
Technologické opracování	Uzená, kuchaná
Oblast lovu	Výrobce Blatenská ryba
Popis	Uzená ryba s typickou vůní
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	0/0
Lokalizace larev	-
Počet larev před/po trávení	0/0

Tab. 19 - Protokol č. 13 Makrela obecná (*Scomber scombrus*)

Název ryby	Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)
Celková délka	31 cm
Hmotnost	239 g
Datum zakoupení/vyšetření	28.11.2017
Technologické opracování	Uzená, kuchaňá
Oblast lovu	Výrobce Blatenská ryba
Popis	Uzená ryba s typickou vůní
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	0/0
Lokalizace larev	-
Počet larev před/po trávení	0/0

Tab. 20 - Protokol č. 14 Makrela obecná (*Scomber scombrus*)

Název ryby	Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)
Celková délka	33 cm
Hmotnost	250 g
Datum zakoupení/vyšetření	28.11.2017
Technologické opracování	Uzená, kuchaňá
Oblast lovu	Výrobce Blatenská ryba
Popis	Uzená ryba s typickou vůní
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	0/0
Lokalizace larev	-
Počet larev před/po trávení	0/0

Tab. 21 - Protokol č. 15 Makrela obecná (*Scomber scombrus*)

Název ryby	Makrela obecná (<i>Scomber scombrus</i>)
Celková délka	32 cm
Hmotnost	239 g
Datum zakoupení/vyšetření	28.11.2017
Technologické opracování	Uzená, kuchařská
Oblast lovu	Výrobce Blatenská ryba
Popis	Uzená ryba s typickou vůní
Makroskopický nálezy larev živé/mrtvé	0/0
Lokalizace larev	-
Počet larev před/po trávení	0/0

Tab. 22 - Protokol č. 16 Sled' obecný (*Clupea harengus*)

Název ryby	Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)
Celková délka	13 cm
Hmotnost	55 g
Datum zakoupení/vyšetření	12.12.2017
Technologické opracování	Filet
Oblast lovu	FAO 27.3
Popis	-
Makroskopický nálezy larev živé/mrtvé	0/0
Lokalizace larev	-
Počet larev před/po trávení	0/0

Tab. 23 - Protokol č. 17 Sled' obecný (*Clupea harengus*)

Název ryby	Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)
Celková délka	17 cm
Hmotnost	64 g
Datum zakoupení/vyšetření	12.12.2017
Technologické opracování	Filet
Oblast lovu	FAO 27.3
Popis	-
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	0/0
Lokalizace larev	-
Počet larev před/po trávení	0/0

Tab. 24 - Protokol č. 18 Sled' obecný (*Clupea harengus*)

Název ryby	Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)
Celková délka	14 cm
Hmotnost	63 g
Datum zakoupení/vyšetření	12.12.2017
Technologické opracování	Filet
Oblast lovu	FAO 27.3
Popis	-
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	0/0
Lokalizace larev	-
Počet larev před/po trávení	0/0

Tab. 25 - Protokol č. 19 Sled' obecný (*Clupea harengus*)

Název ryby	Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)
Celková délka	12 cm
Hmotnost	39 g
Datum zakoupení/vyšetření	12.12.2017
Technologické opracování	Filet
Oblast lovu	FAO 27.3
Popis	-
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	0/0
Lokalizace larev	-
Počet larev před/po trávení	0/0

Tab. 26 - Protokol č. 20 Sled' obecný (*Clupea harengus*)

Název ryby	Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)
Celková délka	15,5 cm
Hmotnost	63 g
Datum zakoupení/vyšetření	12.12.2017
Technologické opracování	Filet
Oblast lovu	FAO 27.3
Popis	-
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	0/0
Lokalizace larev	-
Počet larev před/po trávení	0/0

Tab. 27 - Protokol č. 21 Sled' obecný (*Clupea harengus*)

Název ryby	Sled' obecný (<i>Clupea harengus</i>)
Celková délka	15 cm
Hmotnost	57 g
Datum zakoupení/vyšetření	12.12.2017
Technologické opracování	Filet
Oblast lovu	FAO 27.3
Popis	-
Makroskopický nález larev živé/mrtvé	0/0
Lokalizace larev	-
Počet larev před/po trávení	0/0