Mikroorganizmi u školjkašima kao potencijalna opasnost za zdravlje ljudi

Razić, Matea

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:234259

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

MIKROORGANIZMI U ŠKOLJKAŠIMA KAO POTENCIJALNA OPASNOST ZA ZDRAVLJE LJUDI

MICROOGANISMS IN BIVALVES AS POTENTIAL THREAT TO HUMAN HEALTH

SEMINARSKI RAD

Matea Razić

Preddiplomski studij Znanosti o okolišu

(Undergraduate Study of Environmental Science)

Mentor: izv. prof. dr. sc. Jasna Lajtner

Zagreb, 2017.

Sadržaj:

1. Uvod 1
2. Izvori mikrobiološkog onečišćenja 2
3. Metode izolacije mikroorganizama iz školjkaša 3
4. Virusi 4
    4.1. Virus hepatitisa A 4
    4.2. Norovirus 5
    4.3. Rotavirus 6
5. Bakterije 6
    5.1. *Salmonella* spp. 7
    5.2. *Shigella* spp. 8
    5.3. *Vibrio* spp. 9
6. Pročišćavanje školjkaša i ostale strategije prevencije bolesti 10
7. Literatura 12
8. Sažetak 15
9. Summary 15

1. Uvod

Koljeno Mollusca (mekušci) je vrlo raznolika i dobro istražena skupina beskralježnjaka s oko 35 000 fosilnih i oko 100 000 recentnih vrsta. Mekušci pripadaju skupini nekolutićavih Coelomata. Većinom nastanjuju morske ekosustave, ali mogu se naći i u slatkim vodama te na kopnu. Mekušci se danas dijele na sedam razreda. To su: Aplacophora (bezljušturaši), Polyplacophora (mnogoljušturaši), Monoplacophora (jednoljušturaši), Gastropoda (puževi), Cephalopoda (glavonošci), Bivalvia (školjkaši) i Scaphopoda (koponošci) (Habdija i sur., 2011).

Razredu Bivalvia (školjkaši) pripada oko 25 000 vrsta koje su isključivo vezane za vodeni okoliš i sjedilački ili polusjedilački način života. Većina školjkaša naseljava endobentička i epibentička staništa s mekim sedimentom, a neke vrste razvile su posebne mehanizme za bušenje hodnika u drvetu ili kamenu. Manji broj školjkaša su nametnici ili komenzali na spužvama, mnogočetinašima, rakovima i bodljikašima (Habdija i sur., 2011).

Tijelo školjkaša je bilateralno simetrično i bočno spljošteno, a obavija ga dvodijelna ljuštura građena od vapnenca koja je nazvana školjka. Antagonističko djelovanje mišića zatvarača i ligamenata omogućava otvaranje i zatvaranje školjke. Plašt je organ koji izlučuje školjku. Osim toga on zatvara plaštanu šupljinu u kojoj se nalaze stopalo, utroba, škrge i usni lapovi. Sve aktivnosti školjkaša vezane su uz strujanje vode kroz plaštanu šupljinu u koju kroz dišni otvor ulaze kisik i hranjive tvari, a kroz nečisnički otvor izlaze ugljikov dioksid, izmetni i ekskrecijski produkti te gamete. Plinovi se izmjenjuju preko škrga, plašta i stopala. Mišićno stopalo primarno im služi za ukopavanje u sediment. Osjetni organi i osjetne stanice smješteni su većinom na rubu stopala i plašta. Kod školjkaša to su kemoreceptori, mehanoreceptori i fotoreceptori, a kod nekih vrsta prisutni su i statocisti te cefaličke oči. Školjkaši nemaju radulu ni čeljust što je prilagodba na njihov način prehrane. Probavni sustav im se sastoji od usta, jednjaka, želuca, crijeva, rektuma i crijevnog otvora. Školjkaši su većinom razdvojenog spola, no ima i dvospolaca. Oplodnja je uglavnom vanjska u okolnoj vodi ili se događa u plaštanoj šupljini. Prvi stadij nakon oplodnje je ličinka trohofora iz koje se kasnije kod morskih školjkaša razvija veliger ličinka. Razvoj mladog školjkaša započinje nakon što veliger ličinka pronađe odgovarajuću podlogu (Habdija i sur., 2011).

Budući da se školjkaši još od davnina koriste kao delikatesa u ljudskoj prehrani potrebno je znati da oni predstavljaju i potencijalnu opasnost za zdravlje ljudi. Najzastupljenije sredozemne vrste školjkaša u ljudskoj prehrani i u uzgoju su vrste iz roda *Mytilus* te roda *Ostrea*. Oba roda žive na čvrstoj podlozi. Školjkaši iz roda *Mytilus* za nju su pričvršćeni bisusnim nitima koje izlučuju bisusne stopalne žlijezde, a rod *Ostrea* za podlogu je vezan cementom. Za rod *Mytilus* karakteristične su filibranhijalne škrge, a rod *Ostrea* karakteriziraju škrge pseudolamelibranhijalnog tipa. Vrste iz roda *Mytilus* su razdvojenog spola, a vrste iz roda *Ostrea* su proterandrični dvospolci (Habdija i sur., 2011). Konzumacija sirovih ili termički nedovoljno obrađenih školjkaša može ozbiljno ugroziti ljudsko zdravlje pa čak i dovesti do smrti. Opasnost školjkaša javlja se zbog njihove vrlo brze filtracije vode koja može biti onečišćena raznim mikroorganizmima. Jedan školjkaš može profiltrirati i preko osam litara vode u jednom satu što ga čini povoljnim za bioakumulaciju različitih mikroorganizama i toksina. Makroskopske promjene na školjkašu većinom nije moguće uočiti jer se mikroorganizmi koje školjkaš nije uspio probaviti nalaze u vegetativnom stadiju, a tek nakon što se nađu u čovjeku prelaze u aktivni stadij i uzrokuju bolesti (Čadež i Teskeredžić, 2005). Prema do sada prikupljenim podacima hospitaliziranih pacijenata, 27 % bolesti bilo je uzrokovano virusima, 60 % bakterijama i 3 % parazitima (Mead i sur., 1999; citirano prema Čadež i Teskeredžić, 2005). U ovom radu obrađeni su najučestaliji uzročnici ljudskih bolesti koji se prenose putem školjkaša.

2. Izvori mikrobiološkog onečišćenja

Najveći broj bakterija i virusa dolazi u more nepročišćenim ili djelomično pročišćenim gradskim otpadnim vodama. Svi virusi i bakterije navedeni u radu, osim roda *Vibrio* akumulirani su u školjkašima kao posljedica fekalnog onečišćenja. Osim toga, mikrobiološko onečišćenje može biti prouzročeno ispiranjem tla jakom kišom i vjetrom, a izvor onečišćenja također mogu biti kupači i trgovci. Na širenje mikroorganizama isto tako utječu i balastne vode koje se koriste za stabilizaciju brodova kada prenose laki teret ili ga uopće ne prenose. Nakon dolaska u konačnu luku voda se ispušta, a s njom izlaze i mikroorganizmi koji su se tamo našli (Krstulović i Šolić, 1997).

Bakterije iz roda *Vibrio* prirodno su prisutne u morskoj vodi i njihove koncentracije variraju sezonski. Većina vrsta može živjeti u širokom rasponu saliniteta, a brojnost im se povećava s porastom temperature (Wittman i Flick, 1995). U istraživanju provedenom na

kamenicama, *Ostrea edulis* najveće koncentracije vrste *Vibrio vulnificus* izolirane su pri temperaturi od 17 do 31 °C i salintetu od 15 do 25 ‰, a sličan raspon temperature i saliniteta vrijedi i za ostale vrste iz roda *Vibrio* (O'Neill i sur., 1992).

3. Metode izolacije mikroorganizama iz školjkaša

Nakon sakupljanja uzorci školjkaša su podvrgnuti komercijalnom procesu pročišćavanja u čistoj vodi. Nakon toga homogenizirani su dijelovi tkiva i tekućina iz svakog uzorka. Iz 10 g uzorka i 90 ml sterilne fiziološke otopine priređen je potreban broj razrijeđenja. Za određivanje brojnosti bakterije *Escherichia coli* u uzorcima školjkaša najčešće se koristi metoda najvjerojatnijeg broja koliformnih bakterija (MPN). Razrijeđeni uzorci inokuliraju se u seriju epruveta s A1 medijem koji se sastoji od 5 g laktoze, 20 g tryptona, 5 g natrijevog klorida, 0,5 g salicina, 1 ml otopine Triton X-100 i 1000 ml destilirane vode. Zatim se epruvete inkubiraju 3 h na 37 °C i nakon toga još 21 h na 44 °C. Nakon inkubacije u epruvete s pozitivnom reakcijom, a to su one u kojima je prisutan ugljikov dioksid, dodaje se 10 ml triptofana i sve se to ponovno inkubira 24 h na 44 °C. Dokaz prisutnosti *E. coli* u uzorku je pojava indola nakon dodatka Kovačevog reagensa. Pozitivne epruvete se na kraju izbroje i rezultati se uspoređuju sa statističkim vrijednostima u MPN tablicama i određuju se MPN vrijednosti za uzorak školjkaša (Croci i sur., 2007). Za određivanje bakterija iz roda *Salmonella* potrebno je nasaditi homogeniziran i razrijeđen uzorak u selenit bujon. Nakon inkubacije uzorak se treba precijepiti na Willson-Blaire bizmut sulfitni agar. Na njemu inkubacija traje od 36 do 48 h pri temperaturi od 37 °C. Konačna prisutnost bakterija iz roda *Salmonella* određena je inokulacijom dobivenog uzorka na podlogu s brilijant zelenim i deoxycholatnim agarom. Bakterije iz roda *Vibrio* rasle su na Salmonella-Shigella, TCBS, Simmons citratnom i nutrijentnom agaru s 0 i 6 % natrijevog klorida (Kueh i Chan, 1985).

Prisutnost virusa i determinacija u pripremljenom uzorku školjkaša obično se određuje reverznom transkripcijom s lančanom reakcijom polimeraze (RT-PCR) nakon ekstrakcije RNA. Kako bi se uzorak pripremio za ekstrakciju prvo ga je potrebno razrijediti s puferom glicina i centrifugirati, a nakon toga dva puta precipitirati s otopinom polietilen glikola te ponovno centrifugirati. Sljedeći korak je resuspenzija uzorka u PBS puferu, a zatim ga je potrebno još jednom centifugirati. Na kraju postupka supernatant je ekstrahiran dva puta 30 % kloroformom. Za određivanje prisutnosti virusa hepatitisa A prvo se koristi RT-PCR. Dobiveni produkti služe kao kalup za ugnježđenu lančanu reakciju polimerazom (RT-nested-

PCR) nakon čega se radi elektroforeza. Za dokazivanje norovirusa također se često koristi RT-PCR te elektroforeza (Croci i sur., 2007).

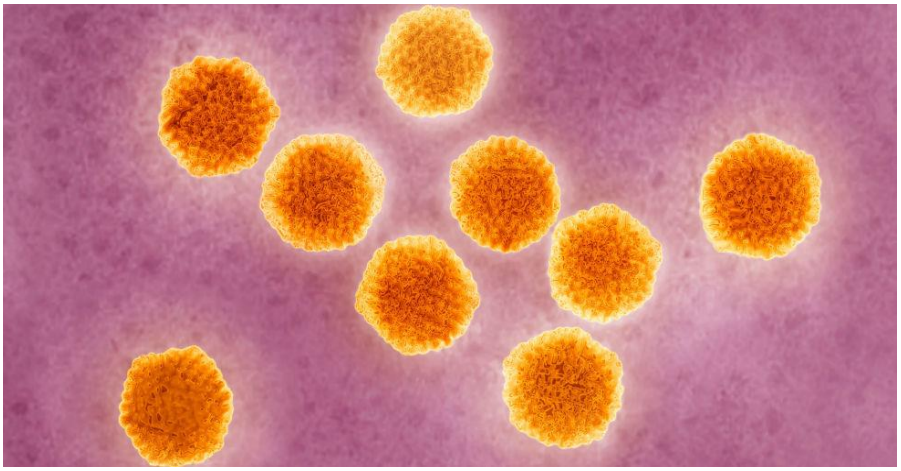
4. Virusi

Ljudsko zdravlje najčešće ugrožavaju virusi koji se u školjkašima nađu kao posljedica fekalnog onečišćenja mora. Za takvo onečišćenje vezani su norovirusi, sapovirusi, enterovirusi, adenovirusi, rotavirusi, astrovirusi, virus hepatitisa A (HAV) i virus hepatitisa E (HEV). Većina navedenih virusa može uzrokovati gastroenteritis, a neke vrste predstavljaju i potencijalnu opasnost za zdravlje očiju, respiratornog i živčanog sustava (Greening i Cannon, 2016). Gastrointestinalne infekcije koje se javljaju nakon konzumacije školjkaša, a nije pronađen pravi uzročnik, također se pripisuju virusima (Čadež i Teskeredžić, 2005). Nabrojeni virusi nemaju ovojnicu, ali imaju kapsidu koja obavija RNA, osim adenovirusa koji pripada skupini DNA virusa. Virusi su obligatni patogeni koji se mogu razmnožavati samo u živim stanicama (Greening i Cannon, 2016). Akumulirani virusi u školjkašu mogu preživjeti u vegetativnom stadiju i nekoliko mjeseci pri temperaturi od 4 °C (Bae i Schwab, 2008; citirano prema Greening i Cannon, 2016).

4.1. Virus hepatitisa A

Virus hepatisa A pripada rodu *Hepatovirus*. Promjer mu je od 27 do 32 nm, a veličina genoma 7,5 kb. Kapsida mu je u obliku ikosaedra, a unutar nje nalazi se jednolančana RNA (Slika 1). Hepatitis A je bolest uzrokovana istoimenim virusom. Bolest je prisutna u gotovo svim dijelovima svijeta, ali nešto je češća u zemljama u razvoju (Greening i Cannon, 2016). Najveći zabilježeni slučaj hepatisa A uzrokovan onečišćenim školjkašima bio je u Kini 1988. godine kada je oboljelo oko 300 000 ljudi (Halliday i sur., 1998; citirano prema Greening i Cannon, 2016). Infekcije se javljaju tijekom cijele godine s obzirom na to da je virus hepatisa A vrlo otporan na isušivanje, visoku i nisku temperaturu, niski pH i različita otapala. Kada se virus nađe u školjkašu lakše preživljava, nego u okolišu jer je zaštićen u tkivu školjkaša koje ga čuva od direktnog utjecaja topline. U zamrznutim uvjetima može ostati očuvan i nekoliko godina, a na temperaturi od 25 °C i 42 % vlažnosti ostaje infektivan i preko mjesec dana što pokazuje da dobro podnosi i isušivanje (Greening i Cannon, 2016).

Virus oštećuje epitelne stanice tankog crijeva i hepatocite te uzrokuje povećanu produkciju jetrenih enzima što uzrokuje upalu jetre. Za razliku od ostalih virusa hepatitisa, ne uzrokuje kroničnu upalu jetre, ali u rijetkim slučajevima može dovesti do smrti. Inficirane stanice se razaraju i prolaze kroz žučni kanal, a na kraju se izbacuju s fekalijama. Prosječan period inkubacije je 28 dana, ali može trajati od 2 do 6 tjedana. Zaražene osobe mogu prenijeti bolest na druge i prije pojave simptoma (Čadež i Teskeredžić, 2005). Početni simptomi bolesti su vrućica, glavobolja, povraćanje, dijareja i tamni urin. Nakon par tjedana javlja se žutica i virus je moguće izolirati iz krvi, a potvrđuje se prisutnošću antitijela anti-HAV imunoglobulina M. Od 1995. godine postoji cjepivo kojim se stječe dugotrajna otpornost na hepatitis A (Greening i Cannon, 2016).



Slika 1. Virus hepatitisa A

(http://www.netdoctor.co.uk/conditions/infections/a5679/hepatitis-a-virus-infection/)

4.2. Norovirus

Norovirus, poznat i pod starijim nazivom Norwalk virus, jedan je od najčešćih uzročnika bolesti koje se prenose hranom. Školjkaši se uglavnom zaraze otpadnim vodama jer se norovirus prenosi fekalijama. Promjer virusa je od 28 do 35 nm, a veličina genoma od 7.4 do 7,7 kb. Simetrija kapside je ikosaedarska, a unutar nje nalazi se jednolančana RNA. Norovirus može ostati infektivan u suhim i hladnim uvjetima kao i prethodno naveden virus hepatitisa A (Greening i Cannon, 2016). Prema istraživanju provedenom na kamenicama u prirodnim uvjetima, norovirus ostaje prisutan u školjkašima od 4 do 6 tjedana nakon infekcije (Greening i sur., 2003; citirano prema Greening i Cannon, 2016).

Simptomi bolesti javljaju se od 12 do 48 h nakon izloženosti virusu, a uključuju mučninu, povraćanje, dijareju, bolove u trbuhu i opću slabost. Moguća je i pojava dehidracije, posebno kod djece i starijih ljudi. Nisu poznate nikakve dugoročne posljedice za zdravlje. Bolest traje vrlo kratko i simptomi su prisutni najviše 60 h. Infekcija norovirusom može se lako utvrditi uz pomoć nekoliko kriterija: bakterijski patogeni nisu prisutni u stolici, bolest traje od 12 do 60 sati i period inkubacije je kratak, povraćanje koje se javlja u više od 50 % slučajeva (Greening i Cannon, 2016).

4.3. Rotavirus

Rotavirus pripada porodici Reoviridae i njihov genom čini dvolančana RNA. Kapsida koja obavija genom je ikosaedarske simetrije. Veličina genoma je od 16 do 27 kb, a promjer virusa je od 60 do 80 nm. Rotavirus nije toliko otporan na zamrzavanje i visoke temperature kao prethodno navedeni virusi te se većinom može inaktivirati pri kuhanju. Dobro je otporan na isušivanje i klor u vodi (Greening i Cannon, 2016). U školjkašima se akumulira postepeno. Čak kada u okolnoj vodi nije pronađen rotavirus, njegova prisutnost u malim koncentracijama dokazana je za 3 tjedna nakon što se akumulirao u školjkašima. Najveća koncentracija izolirana je nakon 4 tjedna (Bagordo i sur., 2013).

Period inkubacije za rotavirus traje od 1 do 2 dana. Karakteristični simptomi su povraćanje i dijareja praćeni vrućicom i bolovima u trbuhu, a kod djece često se javlja i dehidracija. Simptomi su prisutni od 3 do 8 dana. U nekim zemljama provodi se cijepljenje te je njime uspješno smanjen broj oboljelih od rotavirusa (Greening i Cannon, 2016).

5. Bakterije

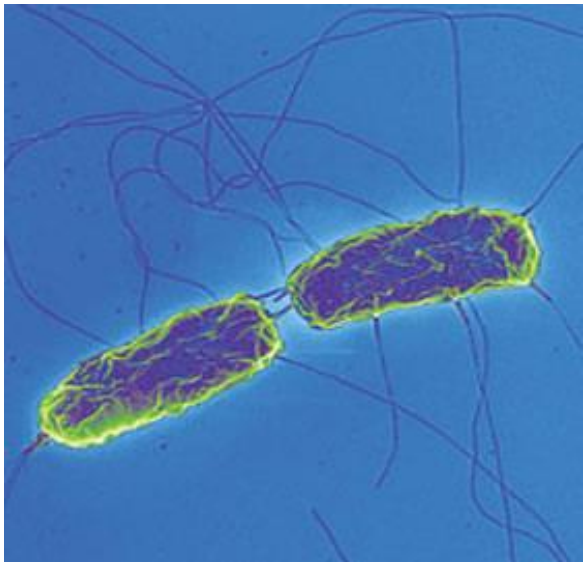
Bakterije su jednostanični prokarioti građeni od prstenaste molekule DNA koja je zaštićena staničnom membranom i stijenkom. Osnovne podjele su prema morfologiji bakterije i građi stanične stijenke koja se određuje bojanjem po Gramu (Rogers, 2011). Najčešći bakterijski patogeni pripadaju rodovima *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Campylobacter*, *Yersinia* i *Aeromonas* te je većinu moguće izolirati iz školjkaša. Primarni izvor bakterija je kao i kod virusa fekalno onečišćena otpadna voda (Krstulović i Šolić, 1997). Izvorna staništa bakterija su tlo i voda, ali većina se uspjela prilagoditi i na uzak suživot s čovjekom kao komenzali ili paraziti. Neke

vrste su čak izgubile mogućnost rasta i razmnožavanja u izvornim staništima. Bakterije koje žive u morskom okolišu uglavnom su Gram-negativne (Jay, 2001).

5.1. *Salmonella* spp.

Bakterije roda *Salmonella* pripadaju porodici Enterobacteriaceae. To su široko rasprostranjeni fakultativno anaerobni Gram-negativni bacili koje ne stvaraju spore. Prva vrsta opisana je 1880. godine i danas je poznata pod nazivom *Salmonella enterica* (Slika 2). Nakon toga ubrzo su izolirane i druge vrste, a nazive su dobivale prema bolesti koju uzrokuju kod ljudi i životinja ili prema životinji iz koje su prvi put izolirane. Ove bakterije najbolje rastu na temperaturi od 35 do 37 °C i pri pH od 6,5 do 7,5 (Anderson i Ziprin, 2001).

Tijek bolesti uzrokovane bakterijama iz roda *Salmonella* ovisi o serotipu i vrsti domaćina (Anderson i Ziprin, 2001). Najčešći ljudski patogen iz tog roda je *Salmonella enterica* serotip Tiphy koja nakon infekcije nastanjuje tanko i debelo crijevo, a izlučuje se fekalijama (Ziprin i Hume, 2001). Mogući simptomi su glavobolja, bolovi u mišićima, vrućica, mučnina, povraćanje, dijareja i dehidracija. Simptomi se obično počinju pojavljivati od 12 do 72 sata nakon infekcije, a bolest većinom traje od 4 do 7 dana. Bolest u najvećem broju slučajeva prolazi bez liječenja, a kod nekih ljudi bolest može proći i bez pojave simptoma. Komplikacije se mogu javiti ako se bakterija proširi krvotokom do drugih organa te je tada potrebno liječenje antibioticima. Posebno ugrožene skupine su djeca mlađa od godinu dana, ljudi koji su operirali čir na želucu, ljudi s oslabljenim imunitetom i stariji ljudi (Srebernich i sur., 2012).



Slika 2. *Salmonella enterica* serotip Tiphy

(https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Salmonella_enterica_serovar_Typhi)

5.2. *Shigella* spp.

Porodica Enterobacteriaceae obuhvaća i rod *Shigella*. Bakterije iz tog roda su fakultativno anaerobne i Gram-negativne. One nisu pokretne, nemaju kapsulu i ne stvaraju spore (Slika 3). Prema obliku spadaju u bacile. Biokemijske karakteristike roda *Shigella* vrlo su slične onima vrste *E. coli* pa ih je teško razlikovati samo na temelju biokemijskih testova. Za razliku od drugih bakterijskih patogena poput onih iz rodova *Salmonella* i *Vibrio* kod kojih je za razvoj bolesti potrebno unijeti od 10 000 do 100 000 000 organizama, za infekciju rodom *Shigella* potrebno je samo 100 bakterija (Maurelli i Lampel, 2001).

Razne vrste mogu zaraziti čovjeka, a najopasnija je *Shigella dysenteriae*. Simptomi bolesti su vrućica, grčevi u trbuhu, dehidracija, upala sluznice crijeva i dijareja koja može prijeći u bakterijsku dizenteriju. Period inkubacije može trajati od 1 do 7 dana, ali najčešće je to oko 3 dana. Ako se bolest ne liječi, simptomi mogu biti prisutni i do 2 tjedna. Smrtnost je najveća kod pothranjene djece, osoba slabijeg imuniteta i starijih ljudi (Maurelli i Lampel, 2001). Moguće komplikacije su gastrointestinalna perforacija, toksični megakolon, sepsa, Reiterov sindrom i hemolitično-uremični sindrom (Bennish, 1991; citirano prema Maurelli i Lampel, 2001).



Slika 3. Bakterije roda *Shigella*

(http://butlercountyhealth.org/2017/02/27/shigella-what-you-need-to-know/)

5.3. *Vibrio* spp.

Bakterije roda *Vibrio* pripadaju porodici Vibrionaceae. Od drugih porodica razlikuje ih to što su pozitivni na test oksidazom i imaju jedan polarni bič. Bakterije iz tog roda su Gram-negativne i fakultativno anaerobne te kao i prethodno navedeni rodovi, ne stavaraju spore. Postoji nekoliko vrsta koje predstavljaju opasnost za zdravlje ljudi, a najpoznatije su *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* i *V. vulnificus*. Iako su ove bakterije prirodno prisutne u vodi, njihova koncentracija dodatno se povećava ispuštanjem otpadnih voda jer one služe kao izvor nutrijenata. Zaraza se najčešće širi kamenicama za vrijeme toplijih mjeseci (Kaysner i Wetherington, 2001).

Bakterija *V. cholerae* se često može izolirati iz vode saliniteta od 2 do 25 ‰ i temperature od 15 do 35 °C. Uzročnici kolere su sojevi *V. cholerae* koji mogu stvarati kolera toksin i koji pripadaju serogrupi 01 i 0139 (Slika 4). Period inkubacije traje od nekoliko sati do 5 dana. Bakterija nastanjuje tanko crijevo i tamo stvara kolera toksin. Simptomi kolere su povraćanje i dijareja, a kod pojave dehidracije može doći i do problema s bubrezima, grčeva u trbuhu i nogama te nesvjestice. Nakon infekcije bakterijom *V. parahaemolyticus* javljaju se mučnina, povraćanje i bolovi u trbuhu. Bakterija je također povezana i sa srčanom aritmijom (Takeda, 1986; citirano prema Chai i Pace, 2001). Bolest obično prolazi sama nakon 3 do 4 dana (Chai i Pace, 2001). Vrsta *V. vulnificus* često izaziva sepsu, a simptomi se obično javljaju u roku od 24 sata i uključuju vrućicu, drhtavicu, mučninu i niski krvni tlak. Također može izazvati sekundarne lezije na rukama i nogama koje ponekad završavaju amputacijom (Dalsgaard i sur., 2001).



Slika 4. *Vibrio cholerae*

(https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Cholera)

6. Pročišćavanje školjkaša i ostale strategije prevencije bolesti

In vitro istraživanje Ho i Tam (2000) bavilo se metodom prirodnog pročišćavanja školjkaša koje se koristi u nekim državama. Metoda koja se provodi u tim državama temelji se na uranjanju školjkaša onečišćenih raznim mikroorganizmima u čistu vodu na neko vrijeme kako bi se prirodno pročistili. U istraživanju školjkaši su najprije tokom 48 sati potpuno pročišćeni pomoću UV-zraka, a zatim su stavljeni u slanu vodu s visokom koncentracijom *E. coli*. Gotovo odmah nakon što su stavljeni u vodu bakterija je ušla u školjkaše, a maksimalne vrijednosti njene koncentracije u tkivu uočene su od 3 do 5 sati nakon izlaganja. Poslije toga brojnost *E. coli* u školjkašima se smanjivala, prvo naglo, a zatim sporije, ali ni nakon 2 dana nije došlo do potpunog pročišćavanja. To se nije dogodilo jer je bakterija periodično ponovno ulazila u školjkaše što se kod njih povezuje s prirodnim ciklusom hranjenja. Iz navedenih razloga ovakva metoda prirodnog pročišćavanja nije idealna jer i nakon nje koncentracije mikroorganizama mogu ostati povišene. Krajnji ishod ovisi o početnoj koncentraciji mikroorganizama akumuliranih u tkivu, o kvaliteti vode u koju se školjkaši stavljaju na pročišćavanje te o učestalosti zamjene vode.

Osim prirodnog pročišćavanja mogu se koristiti i druge strategije za prevenciju bolesti. Najbolja strategija bila bi ulaganje u efikasnije sustave za pročišćavanje otpadnih voda jer su one glavni izvor mikrobiološkog onečišćenja školjkaša. Trebalo bi osigurati i čestu kontrolu kvalitete školjkaša iz uzgoja u potencijalno onečišćenim područjima te u slučaju povišene

koncentracije mikroorganizama ograničiti izlov. Također je važna i bolja edukacija ljudi o mogućnosti zaraze i važnosti termičke obrade školjkaša (Wittman i Flick, 1995). Posebno je važna edukacija rizičnih skupina. Jedna takva skupina su osobe oslabljenog imuniteta poput bubrežnih bolesnika. Za njih je posebno opasna bakterija *V. vulnificus*. Istraživanje provedeno na bubrežnim bolesnicima koji čekaju transplantaciju bubrega ili idu na hemodijalizu pokazalo je kako 48 % bolesnika i nakon dijagnoze jede sirove školjkaše jer nikada nisu upozoreni o mogućim posljedicama za njihovo zdravlje. Mjesec dana nakon provedene edukacije 75 % ispitanika izjavilo je kako u budućnosti više neće jesti sirove školjkaše (Gholami i sur., 1998).

7. Literatura

Anderson R. C., Ziprin R. L., 2001: Bacteriology of *Salmonella*. U: Foodborne disease handbook. Second Edition, Revised and Expanded. Volume 1: Bacterial Pathogens. Ur. Hui Y. H., Pierson M. D., Gorham J. R., CRC Press, Boca Raton, Florida, 247-263.

Bae J., Schwab K. J., 2008: Evaluation of murine norovirus, feline calicivirus, poliovirus, and MS2 as surrogates for human norovirus in a model of viral persistence in surface water and groundwater. Applied Environmental Microbiology **74**, 477–484.; citirano prema Greening i Cannon, 2016

Bagordo F., Grassi T., Idolo A., Serio F., Gabutti G., De Donno A., 2013: Rotavirus Occurrence in Shellfish with Low Levels of *E. coli*. Food and Environmental Virology **5** (3), 169-175.

Bennish M. L., 1991: Potentially lethal complications of shigellosis. Reviews of Infectious Diseases **13**, 319-324.; Maurelli i Lampel, 2001

Chai T.-y., Pace J. L., 2001: *Vibrio parahaemolyticus*. U: Foodborne disease handbook. Second Edition, Revised and Expanded. Volume 1: Bacterial Pathogens. Ur. Hui Y. H., Pierson M. D., Gorham J. R., CRC Press, Boca Raton, Florida, 407-437.

Croci L., Losio M. N., Suffredini E., Pavoni E., Di Pasquale S., Fallacara F., Arcangeli G., 2006: Assessment of human enteric viruses in shellfish from the northern Adriatic sea. International Journal of Food Microbiology **114**, 252-257.

Čadež V., Teskeredžić E., 2005: Patogeni mikroorganizmi i toksini koje prenose školjkaši iz onečišćenih područja-zoonoze. Ribarstvo **63**, 135-145.

Dalsgaard A., Høi L., Linkous D., Oliver J. D., 2001: *Vibrio vulnificus*. U: Foodborne disease handbook. Second Edition, Revised and Expanded. Volume 1: Bacterial Pathogens. Ur. Hui Y. H., Pierson M. D., Gorham J. R., CRC Press, Boca Raton, Florida, 439-470.

Gholami P., Lew S. Q., Klontz K. C., 1998: Raw Shellfish Consumption Among Renal Disease Patients: A Risk Factor for Severe *Vibrio Vulnificus* Infection. American Journal of Preventive Medicine **15** (3), 243-245.

Greening G. E., Cannon J. L., 2016: Human and Animal Viruses in Food (Including Taxonomy of Enteric Viruses). U: Viruses in Foods. Second edition. Ur. Goyal S. M., Cannon J. L., Springer International Publishing, Švicarska, 5-57.

Greening G. E., Hewitt J., Hay B. E., Grant C. M., 2003: Persistence of Norwalk-like viruses over time in pacific oysters grown in the natural environment. U: 4th International Conference on Molluscan Shellfish Safety. Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos da Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. Ur. Villalba A., Reguera B., Romalde J. L., Beiras R., Santiago de Compostela, 367–377.; citirano prema Greening i Cannon, 2016

Habdija I., Primc Habdija B., Radanović I., Špoljar M., Matoničkin Kepčija R., Vujčić Karlo S., Miliša M., Ostojić A., Sertić Perić M., 2011: Protista-Protozoa i Metazoa-Invertebrata. Strukture i funkcije. Alfa, Zagreb, 216-279.

Halliday L. M., Kang L.Y., Zhou T. K., Hu M. D., Pan Q. C., Fu T. Y., Huang Y. S., Hu S. L., 1991: An epidemic of hepatitis A attributable to the ingestion of raw clams in Shanghai, China. Journal of Infectious Diseases **164**, 852–859.; citirano prema Greening i Cannon, 2016

Ho B. S. W., Tam T.-y., 2000: Natural depuration of shellfish for human consumption: A note of caution. Water Research **34** (4), 1401-1406.

Jay J. M., 2001: Bacterial Biota (Flora) in Foods. U: Foodborne disease handbook. Second Edition, Revised and Expanded. Volume 1: Bacterial Pathogens. Ur. Hui Y. H., Pierson M. D., Gorham J. R., CRC Press, Boca Raton, Florida, 23-34.

Kaysner C. A. Wetherington J. H., 2001: *Vibrio cholerae*. U: Foodborne disease handbook. Second Edition, Revised and Expanded. Volume 1: Bacterial Pathogens. Ur. Hui Y. H., Pierson M. D., Gorham J. R., CRC Press, Boca Raton, Florida, 383-405.

Krstulović N., Šolić M., 1997: Mikrobiološko zagađenje mora. Hrvatska vodoprivreda **6**, 31–35.

Kueh C. S. W., Chan K.-y., 1985: Bacteria in bivalve shellfish with special reference to the oyster. Journal of Applied Bacteriology **59**, 41-47.

Maurelli A. T., Lampel K. A., 2001: *Shigella*. U: Foodborne disease handbook. Second Edition, Revised and Expanded. Volume 1: Bacterial Pathogens. Ur. Hui Y. H., Pierson M. D., Gorham J. R., CRC Press, Boca Raton, Florida, 323-343.

Mead P. S., Slutsker L., Dietz V., McCaig L. F., Bresee J. S., Shapiro C., Griffin P. M., Tauxe R. V., 1999: Food–related illness and death in the United States. Emerging Infectious Diseases **5**, 607–625.; citirano prema Čadež i Teskeredžić, 2005

O'Neill K. R., Jones S.H., Grimes D. J., 1992: Seasonal incidence of *Vibrio vulnificus* in the Great Bay estuary of New Hampshire and Maine. Applied and Environmental Microbiology **58** (10), 3257-3262.

Rogers K., 2011: Bacteria and viruses. Britannica Educational Publishing, New York, 3-28.

Srebernich S. M., Cassia Salvucci Celeste Ormenese R., Gomes Ruffi C. R., Gonçalves G. M. S., 2012: Occurrence of Salmonella in Minimally Processed Vegetables. U: Salmonella–A Dangerous Foodborne Pathogen. Ur. Mahmound B. S. M., InTech, Rijeka, 109-122.

Takeda Y., 1986: Thermostable direct hemolysin of *Vibrio parahaemolyticus*. U: Pharmacology of Bacterial Toxins. Ur. Dorser F. i Drews J., Pergamon Press, New York, 183-205.; citirano prema Chai i Pace, 2001

Wittman R. J., Flick G. J., 1995: Microbial contamination of shellfish: Prevalence, risk to human health, and control strategies. Annual Review of Public Health **16**, 123-140.

Ziprin R. L., Hume M. H., 2001: Human Salmonellosis: General Medical Aspects. U: Foodborne disease handbook. Second Edition, Revised and Expanded. Volume 1: Bacterial Pathogens. Ur. Hui Y. H., Pierson M. D., Gorham J. R., CRC Press, Boca Raton, Florida, 285-321.

Izvori slika:

Slika 1. http://www.netdoctor.co.uk/conditions/infections/a5679/hepatitis-a-virus-infection/, pristupljeno 06.07.2017.

Slika 2. https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Salmonella_enterica_serovar_Typhi, pristupljeno 06.07.2017.

Slika 3. http://butlercountyhealth.org/2017/02/27/shigella-what-you-need-to-know/, pristupljeno 07.07. 2017.

Slika 4. https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Cholera, pristupljeno 07.07.2017.

8. Sažetak

Školjkaši predstavljaju opasnost za zdravlje ljudi zbog mogućnosti filtracije vode i akumulacije mikroorganizama. Bolesti se većinom javljaju nakon konzumacije sirovih ili nedovoljno kuhanih školjkaša, iako neki mikroorganizmi mogu ostati infektivni i nakon termičke obrade. Glavni izvor mikroorganizama u školjkašima su nepročišćene ili djelomično pročišćene otpadne vode. U ovom radu prikazane su karakteristike virusnih i bakterijskih patogena te bolesti koje oni uzrokuju. Od virusnih patogena opisani su virus hepatitisa A, norovirus i rotavirus, a od bakterijskih rodovi *Salmonella*, *Shigella* i *Vibrio*. Na kraju su navedene strategije prevencije bolesti koje uključuju prirodno pročišćavanje školjkaša u čistoj vodi, izgradnju boljeg sustava za pročišćavanje otpadnih voda, čestu kontrolu kvalitete školjkaša i edukaciju ljudi o mogućnosti zaraze i važnosti termičke obrade školjkaša.

9. Summary

Bivalves pose a threat to human health due to their ability of water filtration and accumulation of microorganisms. Diseases usually occur after consumption of raw or undercooked bivalves, although some microorganisms may remain infectious even after thermal treatment. The main source of microorganisms in bivalves is unprocessed or partially processed wastewater. This work presents the characteristics of viral and bacterial pathogens and the diseases they cause. Viral pathogens described in this work are hepatitis A virus, norovirus and rotavirus, while described bacterial pathogens are from the genus *Salmonella*, *Shigella* and *Vibrio*. At the end there is a list of strategies for disease prevention which include natural cleansing of bivalves in clean water, construction of a better wastewater treatment system, frequent quality control of bivalves and education of people about the possibility of infection as well as the importance of thermal treatment of bivalves.