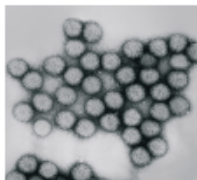


Albert Marinculić
Boris Habrun
Ljubo Barbić
Relja Beck

Biološke opasnosti u hrani



Albert Marinculić

Boris Habrun

Ljubo Barbić

Relja Beck

Biološke opasnosti u hrani



Osijek, 2009.

BIOLOŠKE OPASNOSTI U HRANI

Nakladnik:

Hrvatska agencija za hranu (HAH)

Za nakladnika:

Dr. sc. Zorica Jurković

Autori:

Prof. dr. sc. Albert Marinculić

Dr. sc. Boris Habrun, znanstveni savjetnik

Doc. dr. sc. Ljubo Barbić

Dr. sc. Relja Beck

Autori fotografija:

Dr. sc. Boris Habrun – za 1.dio Bakterije

Doc. dr. sc. Tatjana Živičnjak – za 3. dio Paraziti

Dr. sc. Relja Beck – za 3. dio Paraziti

Ana Beck, dr.vet.med – za 3. dio Paraziti

Urednice izdanja:

Dijana Brlek – Gorski, dr.med.

Brigita Hengl, dr. vet. med.

Uredništvo izdanja:

Znanstveni odbor za biološke, kemijske i fizikalne opasnosti u hrani

Prof. dr. sc. Albert Marinculić

Prof. dr. sc. Kata Galić

Dr. sc. Boris Habrun

Prof. dr. sc. Frane Delaš

Prof. dr. sc. Đurđa Vasić - Rački

Ita Juroš, dipl. ing. preh. teh.

Recenzenti za 1. dio Bakterije:

Prof. dr. sc. Marija Halt

Prof. dr. sc. Lidija Kožačinski

Recenzenti za 2. dio Virusi:

Prof. dr. sc. Antun Beus

Prof. dr. sc. Josip Madić

Prof. dr. sc. Lidija Kožačinski

Recenzenti za 3. dio Paraziti:

Akademik prof. dr. sc. Teodor Wikerhauser

Prof. dr. sc. Branko Richter

Lektorica:

Dijana Šokčić, prof.

Grafičko rješenje naslovne stranice:

Davor Ileš, dipl. ing. el.

Grafička obrada i dizajn:

Grafika d.o.o.

Tisak:

Grafika d.o.o.

Naklada:

1000 primjeraka

Godina izdavanja: 2009.

CIP:

ISBN: 978-953-55680-1-8

Napomena autora:

Autori su dali prikaz trenutačno dostupnih znanstvenih spoznaja te rezultati naknadnih istraživanja mogu učiniti nevažecima neke od navedenih informacija.

Sva prava pridržana od strane nakladnika.

Zahtjev za korištenje i reprodukciju materijala ili dijelova materijala podnijeti u pisanom ili elektroničkom obliku Hrvatskoj agenciji za hranu.

Predgovor nakladnika	5
Predgovor autora	7
1. dio Bakterije	9
Uvod	11
Bakterije koje nisu pripadnici porodice	
<i>Enterobacteriaceae</i>	13
<i>Aeromonas hydrophila</i>	13
<i>Bacillus cereus</i>	14
<i>Campylobacter jejuni</i>	17
<i>Clostridium botulinum</i>	19
<i>Clostridium perfringens</i>	22
<i>Listeria monocytogenes</i>	23
<i>Staphylococcus aureus</i>	26
Streptokoki	29
<i>Vibrio cholerae</i>	30
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	31
Ostali pripadnici roda <i>Vibrio</i> koji uzrokuju alimentarne infekcije	32
Bakterije pripadnici porodice	
<i>Enterobacteriaceae</i>	33
<i>Escherichia coli</i>	33
<i>Salmonella</i> spp.	36
<i>Shigella</i> spp.	39
<i>Yersinia enterocolitica</i>	41
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	43
Ostale enterobakterije	45
Čimbenici koji utječu na rast i razmnažanje bakterija u hrani	47
Literatura	58
2. dio Virusi	59
Uvod	61
Norovirusna infekcija	63
Rotavirusna infekcija	66
Hepatitis A	68
Hepatitis E	71

Sadržaj

Literatura:	74
3. dio Paraziti	77
Uvod	79
Protozoi koji se prenose	
hranom	81
<i>Entamoeba histolytica</i>	81
<i>Toxoplasma gondii</i>	82
<i>Cryptosporidium hominis</i> i	
<i>Cryptosporidium parvum</i>	85
<i>Giardia duodenalis</i>	88
Metilji koji se prenose	
hranom	91
<i>Fasciola hepatica</i>	91
Trakavice koje se prenose	
hranom	93
Trakavice <i>Taenia solium</i> i	
<i>Taenia saginata</i>	93
<i>Diphyllobothrium latum</i> i druge trakavice	
iz roda <i>Diphyllobothrium</i>	95
<i>Echinococcus granulosus</i>	97
Oblici koji se prenose hranom	99
<i>Anisakis simplex</i> i ostali oblici	
iz porodice <i>Anisakidae</i>	99
<i>Ascaris lumbricoides</i>	100
<i>Enterobius vermicularis</i>	102
<i>Trichuris trichiura</i>	103
Oblici iz roda <i>Trichinella</i>	104
Literatura:	109
Rječnik korištenih pojmova i kratice	111
Životopisi	117

Predgovor nakladnika

Hrvatska agencija za hranu (HAH) je institucija s pravima i obvezama propisanim Zakonom o hrani ("Narodne novine" 46/07,155/08). Osnivač Hrvatske agencije za hranu je Vlada Republike Hrvatske. HAH je osnovana prema Zakonu o hrani od 14.7.2003. godine, a 3.1.2005. godine započela je s radom. Svoje zadaće provodi na znanstveno utemeljenim principima, transparentno i neovisno, uz suradnju svekolike znanstvene zajednice okupljene u Znanstveno vijeće i Znanstvene odbore te u području sigurnosti hrane donosi znanstvena mišljenja, daje savjete i provodi procjene rizika. Obavljanjem svoje djelatnosti pridonosi visokoj razini zaštite života i zdravlja ljudi, uzimajući u obzir zdravlje i dobrobit životinja, zdravlje bilja, okoliš i funkcioniranje tržišta. Sjedište Hrvatske agencije za hranu je u Osijeku.

Hrvatska agencija za hranu, koja prema Zakonu o hrani (NN 46/07) usklađenim s europskom direktivom 178/2002, zauzima značajno mjesto u sustavu sigurnosti hrane u Republici Hrvatskoj, prepoznala je vrijednost projekta predloženog prije nekoliko godina od strane njezinog Znanstvenog odbora za biološke, kemijske i fizikalne opasnosti u hrani, u okviru kojeg je predloženo pisanje i objavljivanje knjige/priručnika o biološkim (bakterijskim, virusnim i parazitarnim) opasnostima u hrani.

Želja svih koji su radili na ovoj knjizi bila je da se sveukupnom građanstvu skrene pažnja na bolesti čiji su uzročnici bakterije, virusi i paraziti, koje su njihove odlike, u kojoj se hrani najčešće nalaze, kako što ranije prepoznati simptome bolesti te najvažnije - što mogu poduzeti kako bi se što bolje zaštitili od potencijalnih opasnosti. Kako je rad na knjizi odmicao širio se i krug zainteresiranih kojima bi ona mogla koristiti. Tako je nastala knjiga koju kao pomoć mogu koristiti i proizvođači hrane, što je vrlo značajno posebice u trenutku kada se u našoj zemlji provodi sustav kontrole hrane „od polja do stola“, gdje su svi sudionici u lancu proizvodnje hrane odgovorni za njezinu sigurnost. Knjiga je napisana tako da

može poslužiti kao praktičan podsjetnik u laboratorijima u kojima se obavlja analiza hrane, sanitarnim i veterinarskim inspekcijama, a također i kao dopunski udžbenik svim srednjoškolicima i studentima veterinarskih, medicinskih, prehrambeno-tehnoloških, poljoprivrednih, bioloških i ostalih bliskih struka.

Kako bi ovo djelo bilo zanimljivo velikom krugu javnosti poseban naglasak u njegovom nastajanju bio je na jednostavnom jeziku i stilu, preglednosti podataka koji su podijeljeni u poglavlja, tabličnom pregledu najznačajnijih osobina bioloških organizama koji se mogu naći u hrani (tablica se nalazi na kraju svakog poglavlja) te prikazivanju podataka o pojavnosti bolesti u Hrvatskoj. U knjizi su obrađene bolesti koje su dosta česte u našim krajevima, kao i bolesti koje se kod nas nešto rjeđe pojavljuju, ali su ipak zabilježene na ovim područjima. U 1. dijelu – bakterije navedene su akreditirane metode pretraga na hrvatskom i engleskom jeziku u tekstu i u tablici na kraju poglavlja. Ti podaci odražavaju trenutno stanje u analitici uz mogućnost promjene ovisno o razvoju novih analitičkih metoda tako da se to područje mora kontinuirano pratiti. U sklopu knjige nalazi se i Rječnik korištenih pojmova i kratica za sve riječi koje nisu mogle biti zamijenjene hrvatskom inačicom zbog specifičnosti područja koje ovo djelo obrađuje.

Na kraju ovog predgovora zahvaljujem se velikom timu ljudi koji je radio na ovoj knjizi. Autorima, prof.dr.sc. Albertu Marinculić, dr.sc.Borisu Habrun, dr.sc.Ljubi Barbić i dr.sc.Relji Beck, koji su vrhunski znanstvenici u svom području. Recenzentima za 1. dio – bakterije prof.dr.sc. Mariji Halt i prof.dr.sc.

Lidiji Kožadžinski, za 2. dio – virusi prof.dr.sc. Antunu Beus, prof.dr.sc. Josipu Madić i prof. dr.sc.Lidiji Kožadžinski, za 3. dio – paraziti akademiku prof.dr.sc. Teodoru Wikerhauser i prof.dr.sc. Branku Richter. Veliko hvala Diani Brlek –Gorski dr. med. koja je zaslužna za stručnu recenziju i uređivanje knjige u cjelini.

Zahvala ide i svim članovima Znanstvenog odbora za biološke, kemijske i fizikalne opasnosti u hrani od kojih je i potekla ideja o ovoj knjizi, na čelu sa koordinatoricom Znanstvenog odbora Brigitom Hengl koja je upornim i marljivim radom značajno doprinijela uređivanju i objavljivanju ove knjige. Zahvala također svima koji su svojim prijedlozima ili kritikama obogatili ovo djelo.

Nadamo se da će svi kojima je ovo izdanje namenjeno pronaći u njemu koristan priručnik.

Dr.sc. Zorica Jurković,
znanstvena savjetnica
ravnateljica Hrvatske agencije za hranu

Osijek, svibanj 2009.

Predgovor autora

Bakterije koje se prenose hranom i uzrokuju probavne poremetnje ljudi poznate su od doba prvih pisanih tragova u povijesti. Jedna od takvih bakterijskih bolesti jest kolera, koja je vjekovima odnosila živote ljudi, sve do dvadesetog stoljeća kada je u razvijenim zemljama prestala biti značajna bolest, za razliku od nerazvijenih zemalja. Iako se bolesti poput kolere učinkovito kontroliraju izgradnjom kvalitetne vodovodne i kanalizacijske mreže, druge bakterijske infekcije probavnog sustava poput salmoneloze i kampilobakterioze predstavljaju velik zdravstveni problem i u razvijenim zemljama. Najbolji način prevencije probavnih infekcija i intoksikacija je sprječavanje kontakta uzročnika ovih infekcija s čovjekom, zbog čega treba učinkovito kontrolirati hranu u svim etapama pripreme (uzgoj, prerada, distribucija, priprema). Sustavi poput HACCP-a pomažu nam učinkovito kontrolirati sve rizične točke u kojima bi moglo doći do kontaminacije hrane bakterijama i drugim uzročnicima crijevnih infekcija i intoksikacija. Iako za liječenje bakterijskih infekcija postoje antimikrobni lijekovi, danas, nažalost bakterije uzročnici crijevnih infekcija i intoksikacija ljudi vrlo učinkovito razvijaju otpornost prema lijekovima, čime se polako smanjuje broj lijekova koji su na raspolaganju za učinkovito liječenje bakterijskih infekcija i intoksikacija.

Pod pojmom parazita najčešće podrazumijevamo nešto vidljivo golim okom i nešto vrlo ružno što napada najsiromašnije stanovnike naše planete. Nerado ih povezujemo s našim standardom života, no to nije tako. Svjedoci smo vrlo značajnih epidemija kriptosporidioze koje su se desile upravo u najurbanijim dijelovima Sjedinjenih Američkih Država. Da ne spomenemo toksoplazmozu za koju je danas dokazano da može biti povezana i sa slučajevima shizofrenije u ljudi. Hrvatska se već gotovo dva desetljeća bori i s trihinelozom, bolesti koja je poznata gotovo 160 godina, ali koja i danas predstavlja značajne ekonomske gubitke. Globalizacija prometa hranom danas donosi i nove rizike pa je jasno da nekoć

tropski paraziti mogu ugroziti i stanovnike drugih dijelova svijeta. Danas se zna da paraziti koji ugrožavaju stanovništvo u urbanim dijelovima svijeta nisu ružne trakavice i oblići već sitni, golim okom nevidljivi nepozvani gosti u hrani i vodi. Treba naglasiti da je za čovjeka opasno oko 300 različitih vrsta parazita od čega čak 70 vrsta protozoa. Mnogi među njima prate ljudsku populaciju kroz evoluciju o čemu vrlo jasno govore paleoparazitološka istraživanja. U posljednje vrijeme posebna pažnja se pridaje upravo onima koji nisu evolucijski bili povezani sa životom u čovjeku već je njihova opasnost povezana s dodiranjem ili pak konzumiranjem mesa životinja. Većina najznačajnijih parazita koji se prenose hranom i vodom možemo svrstati u istu skupinu. Poglavlje o opasnostima uzrokovanih parazitima obuhvaća najznačajnije predstavnike protozoa, metilja, trakavica i oblića koji ugrožavaju naše stanovništvo.

Virusi su najmanji mikroorganizmi veličine od 15 do 400 nm koji uzrokuju različite bolesti biljaka, životinja i ljudi. Čak i danas kada svakodnevno svjedočimo zadivljujućem napretku moderne medicine virusi ostaju jedina skupina mikroorganizama za koju ne postoji etiološka terapija tako da se liječenje

i dalje provodi simptomatski, a primarni način zaštite stanovništva je uspostava i provođenje mjera za sprječavanje širenja virusnih zaraznih bolesti. Veliki broj virusa može se prenositi i konzumacijom kontaminirane hrane. Za ovu skupinu virusa najvažniji način širenja je fekalno-oralni prijenos. Zajednička svojstva su im da imaju izražen tropizam prema stanicama probavnog sustava koji kao posljedicu ima izlučivanje uzročnika u velikoj količini u stolici i povraćenom sadržaju. Zbog toga oboljela osoba predstavlja izvor infekcije u izravnom kontaktu, ali istovremeno i izlučivanjem omogućuje kontaminaciju svih predmeta i prostora u njejoj okolini, uključivši i hranu u čijoj pripremi ili posluživanju sudjeluje. Ukoliko se takva hrana konzumira bez prethodne toplinske obrade ili ukoliko se poslužuje u kontaminiranom posuđu dolazi do slučajeva masovnog zaražavanja. Nepostojanje etiološke terapije i uz svojstva virusa koja im omogućavaju različite načine brzog i jednostavnog širenja u populaciji, naglasak se stavlja na važnost poznavanja virusnih bolesti kako bi pomoću tih spoznaja uspostavili sustav kontrole i spriječili nastanak epidemija.

Autori

Hrvatska agencija za hranu

Radi skraćivanja vremena pretrage mogu se koristiti imunoenzimski testovi (ELISA), gdje se koriste dva bujona za prednamnažanje i namnažanje, a potom se bujon za namnažanje koristi za izvođenje imunoenzimskog testa. Ako je rezultat imunoenzimskog testa negativan pretraga se završava, a ako je pozitivan mora se nastaviti kulturelna pretraga. Ove su pretrage preporučene od strane AOAC-a.

Razvijena je i GLISA (Gold Labelled Immunosorbent Assay), a traje oko 48 sati.

Staphylococcus aureus

Opis uzročnika

Staphylococcus aureus (slika 2) je Gram-pozitivna fakultativno anaerobna bakterija kuglasta oblika, nepokretna, ne tvori spore. Bakterijske stanice ove vrste promjera su između 0,5 i 1,5 μm . Nakon diobe stanice mogu ostati pojedinačne, u parovima, kratkim lancima, tetradama, a najkarakterističnije su nepravilne nakupine stanica u obliku grozda. Stafilocoki tvore mnoge ekstracelularne enzime i toksine i o tome ovisi patogenost i virulencija pojedinih sojeva. Vegetativne oblike bakterije (ne toksine) ubija temperatura od 60°C tijekom 8 minuta.

Naziv bolesti

Stafilokokno trovanje hranom (stafilointerotoksikoza, stafilointerotoksemija) je naziv za bolest čovjeka koju uzrokuju enterotoksini bakterije *Staphylococcus* (*S.*) *aureus* koji su prema svojem antigenom sastavu podijeljeni u tipove A, B, C1, C2, D i E. Ti enterotoksini uzrokuju alimentarne intoksikacije, termostabilni su (otporni na temperaturu od 100°C tijekom 30 minuta, 90%-tnu redukciju količine toksina uzrokovat će temperatura od 100°C tijekom 135 minuta) i otporni na dje-

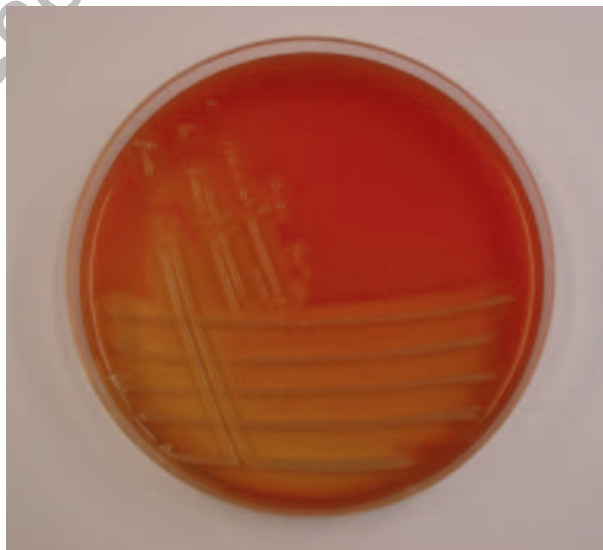
lovanje proteolitičkih enzima. Otrovanja najčešće uzrokuju enterotoksini A i D.

Infekcijska doza i klinička slika bolesti

Količina toksina manja od jednog mikrograma u kontaminiranoj hrani može uzrokovati simptome stafilokokne intoksikacije. Ako u 1 gramu hrane ima 10^5 stanica bakterije *S. aureus* u hrani se može naći količina toksina dostatna za uzrokovanje intoksikacije.

Nastup znakova bolesti je brz, a karakteristično je da se svi inficirani gotovo istodobno razbole. Inkubacija je vrlo kratka, 2 do 6 sati.

Najčešći znakovi bolesti su povraćanje, mučnina, grčevi u trbuhu i iscrpljenost. Proljev i povišena temperatura nisu uvijek izraženi. Pojedinci ne očituju uvijek sve navedene znakove intoksi-



Slika 2. Kolonije vrste *Staphylococcus aureus* na krvnom agaru nakon 24 sata inkubacije (iz zbirke Hrvatskog veterinarskog instituta).

kacije. Dehidracija može biti znatna. U ozbiljnijim slučajevima mogu se javiti glavobolje, grčevi mišića i prolazni poremećaji u krvnom tlaku i bilu. Bolest je burna i kratkotrajna, oboljele osobe su nakon rehidracije obično dobro za 12 do 48 sati.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

U dijagnostici stafilokokne intoksikacije čovjeka važna je temeljito uzeta anamneza i analiza svih epidemioloških podataka, jer je mikrobiološki teško dokazati ovu intoksikaciju budući da se nerijetko stafilokoki mogu naći i u stolici zdravih ljudi. Hranu na koju se posumnja da je uzrokovala trovanje treba uzorkovati i pretražiti na prisustvo stafilokoka. Velik broj izdvojenih enterotoksigenih stafilokoka govori u prilog činjenici da ta hrana sadrži enterotoksine. Postoje testovi kojima se može dokazati da li pojedini izolat bakterije *S. aureus* tvori toksine ili ne, tj. da li je enterotoksigen.

Fagotipizacija je metoda za dokazivanje cijelog puta intoksikacije jer njome možemo dokazati da je isti fagotip bakterije *S. aureus* izdvojen iz oboljelog čovjeka i hrane.

Učestalost bolesti

Točna incidencija trovanja enterotoksinima bakterije *Staphylococcus aureus* nije točno poznata. Najčešći razlog za to su loši anamnestički podaci oboljelih ljudi i kriva dijagnoza, budući da simptomi mogu biti slični onima koje uzrokuju druga trovanja hranom, npr. povraćanje uzrokovano toksinom bakterije *Bacillus cereus*. U Hrvatskoj su od 1986. do 1996. godine registrirane 23 epidemije stafilokoknog otrovanja s 5 do 62 oboljela po epidemiji. Tijekom 2006. godine zabilježena je jedna epidemija s 18 oboljelih. Najčešći izvor otrovanja bio je sladoled.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Smrt uzrokovana intoksikacijom toksinima bakterije *S. aureus* izuzetno je rijetka, iako je moguća u starijih osoba, male djece i općenito u imunokompromitiranih osoba.

Rizična populacija

Sve skupine ljudi su osjetljive na ovu intoksikaciju, naravno težina simptoma ovisi o zdravstvenom stanju pojedinca.

Rizična hrana

Enterotoksini obično nastaju u hrani koja sadrži znatne količine ugljikohidrata ili bjelancevina, kada se drži u neprikladnim uvjetima koji omogućuju razmnažanje stafilokoka. Onečišćenje hrane stafilokokima je najčešće posljedica nehigijenskog postupka s namirnicama, ali namirnice mogu biti i primarno kontaminirane stafilokokima. Enterotoksine uglavnom tvore sojevi humanog podrijetla, a od životinjskih sojeva često ih tvore sojevi ovčjeg podrijetla.

Hrana koja najčešće uzrokuje intoksikaciju stafilokoknim enterotoksinima je meso i mesni proizvodi, meso peradi i proizvodi koji sadrže jaja. Čest uzrok intoksikacije su i salate koje sadrže jaja, meso tune, meso peradi, krumpir i tjestenine. Isto tako i slastičarski proizvodi (kremasti kolači, sladoled), čokoladni proizvodi, mlijeko i mliječni proizvodi. Radi izbjegavanja kontaminacije hrane stafilokokima, treba voditi računa o higijeni objekata i djelatnika te o pravilnoj temperaturi pohrane hrane.

Stafilokoki se nalaze u zraku, prašini, blatu, kanalizaciji, vodi, mlijeku, hrani, opremi koja se koristi u pripremi hrane, površinama u okolišu, životinjama i ljudima. Životinje i ljudi su primarni rezervoari stafilokoka. Stafilokoki se nalaze u nosnim prohodima, ždrijelu, kosi i koži više od 50% zdravih osoba. Ovaj postotak je i veći u populaciji ljudi koja je u dodiru s bolesnim ljudima ili rade u bolnici.

Iako su najznačajniji izvor stafilokoka koji uzrokuju intoksikacije ljudi koji rade s hranom, izvor kontaminacije hrane stafilokokima mogu biti i oprema i prostor u prehrambenoj industriji, slastičarnicama itd.

Ljudi se obično intoksiciraju hranom koja ili nije dovoljno termički obrađena (60°C ili više), ili nije držana na dovoljno niskoj temperaturi (nižoj od 7,2°C).

Dokazivanje uzročnika u hrani

U mikrobiološkoj pretrazi hrane koristi se više metoda:

1. [HRN EN ISO 6888-1:2004](#): Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Horizontalni postupak brojenja koagulaza-pozitivnih stafilocoka (*Staphylococcus aureus* i druge vrste) - 1. dio: Postupak primjene Baird-Parkrove hranjive podloge na agaru (ISO 6888-1:1999+Amd 1:2003; EN ISO 6888-1:1999+A1:2003): Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium (ISO 6888-1:1999+Amd 1:2003; EN ISO 6888-1:1999+A1:2003)
2. [HRN EN ISO 6888-2:2004](#): Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Horizontalni postupak brojenja koagulaza-pozitivnih stafilocoka (*Staphylococcus aureus* i druge vrste) - 2. dio: Postupak primjene agara s fibrinogenom i plazmom kunića (ISO 6888-2:1999+Amd 1:2003; EN ISO 6888-1:1999+A1:2003) Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) -- Part 2: Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium (ISO 6888-2:1999+Amd 1:2003; EN ISO 6888-1:1999+A1:2003)
3. [HRN EN ISO 6888-3:2004](#): Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Horizontalna metoda za brojenje koagulaza-pozitivnih stafilocoka (*Staphylococcus aureus* i drugi sojevi) -- 3. dio: Izolacija i MPN postupak za male brojeve (ISO 6888-3:2003; EN ISO 6888-3:2003): Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 3: Detection and MPN technique for low numbers (ISO 6888-3:2003; EN ISO 6888-3:2003)

4. [HRN EN ISO 6888-3:2004/Ispr.1:2008](#): Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Horizontalna metoda za brojenje koagulaza-pozitivnih stafilocoka (*Staphylococcus aureus* i drugi sojevi) - 3. dio: Izolacija i MPN postupak za male brojeve (EN ISO 6888-3:2003/AC:2005): Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 3: Detection and MPN technique for low numbers (EN ISO 6888-3:2003/AC:2005)

Razvijena je i ELISA koja je orijentacijska metoda i daje rezultat unutar 26 sati.

Hrana se može pretraživati i na prisustvo stafilokoknih enterotoksina. Toksin mora biti odvojen iz hrane i koncentriran prije precipitacije s odgovarajućim antiserumom (antienterotoxin). Dva se načela koriste za koncentriranje:

1. selektivna apsorpcija enterotoksina iz ekstrakta hrane
2. korištenje fizikalnih i kemijskih postupaka za selektivno uklanjanje dijelova hrane, ostavljajući enterotoksin u otopini.

Uporaba navedenih tehnika za izdvajanje enterotoksina i njegovo koncentriranje omogućuju detekciju malih količina toksina u hrani.

Također su razvijene i brze metode temeljene na monoklonskim protutijelima (ELISA, reverzna pasivna lateks aglutinacija) koje mogu učinkovito otkriti enterotoksin u hrani s preciznošću otkrivanja 1.0 nanograma enterotoksina u hrani.

Smanjenje rizika

Mogućnost smanjenja rizika bit će opisana na jednom slučaju iz SAD-a.

U Teksasu je 1364-ero djece bilo intoksicirano od ukupno 5824-ero djece, koliko je konzumiralo ručak koji je bio serviran u 16 osnovnih škola. Ručak je bio pripremljen u central-

noj kuhinji i potom distribuiran po školama. Epidemiološko istraživanje pokazalo je da je oboljelo 95% djece koja su jela pileću salatu. Piletina korištena za tu salatu bila je kuhana 3 sata, potom je meso bilo odvojeno od kostiju, ohlađeno na sobnu temperaturu, razdijeljeno u manje komade, pohranjeno u duboke aluminijske posude i ostavljeno preko noći u hladnjaku. Sljedećeg jutra ostali sastojci salate bili su dodani u pileće meso i pomiješani električnim mikserom. Potom je hrana stavljena u kontejnere i transportirana u škole između 9.30 i 10.30 h, te servirana za ručak u 11.30 h i tijekom poslijepodneva. Bakteriološkom pretragom salate utvrđena je prisutnost bakterije *S. aureus* u velikom broju.

Kontaminacija peradi nastala je vjerojatno nakon odvajanja mesa od kostiju, jer je meso bilo pohranjeno u preduboke posude, pa nije bilo dovoljno brzo ohlađeno. Brzo razmnažanje stafilokoka vjerojatno je nastavljeno u toplim učionicama gdje su učenici čuvali hranu.

Smanjenje rizika stafilokoknog trovanja hranom temelji se na pregledu ljudi koji rade s hranom kako bi se utvrdilo tko je među njima kliconoša stafilokoka. Hranu je potrebno u što kraćem vremenu ohladiti i držati pohranjenu na temperaturi hladnjaka cijelo vrijeme do trenutka pripreme odnosno do konzumacije.

Streptokoki

Opis uzročnika

Pripadnici roda *Streptococcus* boje se Gram pozitivno, aerobni su, nepokretni, kuglasti ili jajolika oblika. Dije se samo u jednoj ravni zbog čega se u bojenim preparatima nalaze u parovima, duljim ili kraćim lancima. Određen broj streptokoka dio je normalne flore usta i crijeva ili sudjeluje u fermentaciji namirnica. S medicinskog stajališta dijele se u piogene streptokoke, oralne streptokoke i ostale streptokoke.

Prema hemolitičkim svojstvima dijele se u tri skupine. Alfa-hemolitički streptokoki djelomično razgrađuju hemoglobin, što se očituje područjem nepotpune hemolize oko kolonije na krvnom agaru. Beta hemolitički streptokoki potpuno razgrađuju hemoglobin, a nehemolitički streptokoki uopće ne razgrađuju hemoglobin.

Streptokoki imaju više antigena, od kojih je najznačajniji polisaharidni antigen stijenke, tzv. C-tvar, prema kojoj se streptokoki dijele u skupine od A do W. Ovo razvrstavanje se izvodi reakcijom precipitacije prema Lancefeldovoj.

Iako su zbog različitih svojstava odijeljeni u zasebni rod, streptokokima u širem smislu pripadaju i enterokoki.

U antigenoj skupini A nalazi se jedna vrsta (*Streptococcus pyogenes*) koja se hranom može prenijeti na čovjeka.

Naziv bolesti

Skupina A streptokoka u čovjeka uzrokuje upalu ždrijela i šarlah, ali i druge gnojne i septikemijske infekcije.

Klinička slika bolesti

Bolest se u čovjeka očituje upalom ždrijela, krajnika, bolom kod gutanja, visokom temperaturom, glavoboljom, mučninom, povraćanjem, slabošću, krvarenjem iz nosa, a ponekad se javlja osip na koži. Inkubacija obično traje 1-3 dana, a infekcijska doza je vjerojatno mala (oko 10^5 bakterijskih stanica).

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Bakteriološka pretraga obriska ždrijela, gnoja, ispljuvka, krvi, sumnjive hrane i predmeta.

Učestalost bolesti

Infekcije skupinom A streptokoka javljaju se tijekom cijele godine u relativno niskoj incidenciji. Tijekom 2006. godine u Hrvatskoj je zabilježeno 3024 slučajeva šarlaha i 8041 slučaj

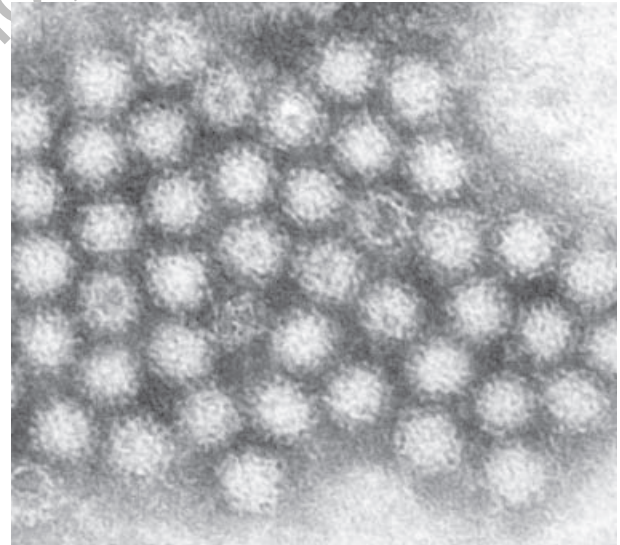
Hrvatska agencija za hranu

Norovirusna infekcija

Opis uzročnika

Pripadnici roda *Norovirus*, porodica *Caliciviridae*, su RNA virusi koji uzrokuju gastroenteritis u ljudi. Virusna čestica je veličine 27-32 nm, bez ovojnice, s izraženom ikozaedralnom simetrijom. Virus sadrži jednolančani linearni RNA genom veličine 7,5 kb, koji sadrži tri ORF regije, te jedan strukturni protein veličine 60 kDa. Gustoća virusa određena u CsCl iznosi 1,39-1,40 g/ml. Virus se ne umnaža na primarnim ili linijskim staničnim kulturama.

Rod *Norovirus* sadrži viruse koji pripadaju serološki različitim skupinama, a također je ustanovljeno da postoji 5 genomskih skupina norovirusa (GI, GII, GIII, GIV i GV) koje se dijele u najmanje 20 genetičkih skupina.



Slika 1. Elektronska mikrofotografija norovirusa*

*Izvor: Centers for Disease Control and Prevention's Public Health Image Library (PHIL), identifikacijski broj #10704.

Drugi nazivi bolesti

Infekcija norovirusima opisana je pod više naziva pa se koriste termini virusni gastroenteritis, akutni nebakterijski gastroenteritis, otrovanje hranom, infekcija hranom i "gripa želuca".

Način širenja i klinička slika bolesti

Prema učestalosti najčešći način širenja bolesti je preko hrane, zatim izravno s čovjeka na čovjeka te rjeđe kontaminiranim vodom.

Dokazano je da ljudi izlučuju virus u stolici 15 sati nakon pokusne infekcije. Izlučivanje uzročnika u najvišem titru je 25 do 72 sata nakon infekcije, a ukupno traje do 2 tjedna. Kod asimptomatskih kliconoša izlučivanje uzročnika može trajati i dulje. Također je dokazano da tijekom povraćanja nastaje aerosol u kojem se virus može naći u infektivnoj dozi te na taj način kontaminirati prostore i predmete.

Osobe koje izlučuju virus, a sudjeluju u pripremi hrane uz loše higijenske uvjete dovode do njene kontaminacije te na taj način stvaraju preduvjete za nastanak epidemije bolesti. Iz tog razloga najčešći nastanak epidemija bolesti vezan je uz konzumaciju kontaminirane hrane na mjestima gdje se većem broju ljudi poslužuje gotova hrana. Prema učestalosti u nastanku epidemija najčešći izvor infekcije bila je kontaminirana hrana u restoranima, zatim bolnicama te školskim restoranima. Zbog povoljnih epidemioloških čimbenika norovirusne epidemije s velikim brojem oboljelih osoba često se javljaju i na velikim turističkim brodovima.

Osim gotovom hranom zabilježene su infekcije svježim ili smrznutim voćem i povrćem, te školjkama koje su uzgajane u vodi u kojoj je ustanovljeno fekalno onečišćenje.

Bolest se može prenijeti u izravnom dodiru s osobom koja pokazuje kliničke znakove, kao i u dodiru s predmetima i borbom u prostorima u njejoj okolini.

S obzirom da je virus otporan na koncentraciju klora u vodovodnoj vodi moguće je i širenje bolesti kontaminiranim vodom iz javnog vodovoda, kao i vodom iz bunara, jezera, potoka i bazena, najčešće uslijed fekalne kontaminacije.

Inkubacija bolesti je kratka i obično traje 24 do 48 sati. Najkraća zabilježena inkubacija iznosila je 4 sata, a najdulja 77 sati.

Infekcijska doza je vrlo mala te je ustanovljeno da je doza od 10^2 virusnih čestica dovoljna da izazove bolest.

Patogeneza norovirusne infekcije nije u potpunosti razjašnjena. Virus u prednjem dijelu tankog crijeva uzrokuje patohistološke promjene u vidu skraćivanja i proširenja crijevnih resica jejunuma uz infiltracije mononuklearnim stanicama i citoplazmatsku vakuolarizaciju. Uz promjene na jejunumu, smatra se da poremećaj motoričke funkcije želuca nastaje tijekom infekcije virusom te da uzrokuje kliničke simptome mučnine i povraćanja.

Infekcija norovirusom klinički se očituje naglim nastupom mučnine, povraćanja, vodenastog proljeva i abdominalne boli. U nekim slučajevima zabilježena je i glavobolja te blago povišenje tjelesne temperature. Povraćanje je učestaliji klinički znak kod infekcije djece, dok se kod odraslih češće pojavljuje proljev. Bolest najčešće prolazi spontano uz rehidraciju i nadoknadu elektrolita za 12-60 sati od pojave prvih kliničkih znakova, ne ostavljajući trajne posljedice. Iznimno su zabilježeni slučajevi potrebe za intenzivnijim medicinskim tretmanom i hospitalizacijom, najčešće kod starijih osoba s prethodnim zdravstvenim poteškoćama. U prirodnim, kao i pokusnim infekcijama, dokazano je da bolest može proći bez simptoma u više od 30% inficiranih osoba.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

S obzirom da je 96% nebakterijskih gastroenteritisa uzrokovano infekcijom norovirusom, radnu dijagnozu bolesti moguće

je postaviti s visokom sigurnošću na osnovu kliničkih znakova i epidemioloških podataka. Radna dijagnoza norovirusne infekcije postavlja se u slučaju epidemije akutnog gastroenteritisa uz zadovoljavanje 4 kriterija:

- a) uzorci stolice oboljelih ljudi negativni su na bakteriološkoj i parazitološkoj pretrazi
- b) povraćanje je izraženo kao klinički znak u $\geq 50\%$ oboljelih ljudi
- c) prosječno trajanje bolesti je između 12 i 60 sati
- d) inkubacija bolesti je 24-48 sati

Dokaz uzročnika moguće je načiniti pretragom uzorka stolice direktno elektronskim mikroskopom ili imunoelektronskom mikroskopijom, čime se bolest objektivno dokazuje.

Najčešće korištena metoda za objektivnu dijagnostiku bolesti je RT-PCR metoda kojom možemo dokazati uzročnika u stolici ili povraćenom sadržaju.

Objektivna dijagnoza može se postaviti i na osnovu seroloških pretraga (ELISA) parnih seruma, gdje četverostruki porast titra specifičnih protutijela u konvalescentnom serumu potvrđuje bolest.

Učestalost bolesti

Prema podacima za Nizozemsku i Englesku, 5-17% slučajeva bolesti s kliničkom manifestacijom proljeva uzrokovano je infekcijom norovirusom, dok je u SAD-u ustanovljeno da je preko 50% epidemija gastroenteritisa nastalih konzumiranjem kontaminirane hrane uzrokovano norovirusom. Od nebakterijskih akutnih gastroenteritisa nastalih konzumiranjem kontaminirane hrane 96% je uzrokovano norovirusnom infekcijom. U Republici Hrvatskoj je 2006. godine prijavljeno 11 epidemija uzrokovanih norovirusnom infekcijom tijekom kojih je klinički oblik bolesti zabilježen u 511 oboljelih osoba.

Rizična populacija

Cjelokupna populacija je prijemljiva za norovirusnu infekciju s tim da je bolest češća u odraslih i starije djece nego u mlađe djece.

Imunost nastala preboljenjem infekcije norovirusom je kratkotrajna i nije izražena unakrižna zaštita kod infekcije heterolognim sojevima virusa. S obzirom na to, neprijemljive su samo osobe koje su u zadnja 24 mjeseca preboljele infekciju homolognim sojem virusa.

Istraživanja su pokazala da pojedine osobe imaju izraženiju sklonost obolijevanju od norovirusne infekcije, čak i uz nazočnost specifičnih protutijela, pa se pretpostavlja da postoji genetski uvjetovana sklonost infekciji.

Rizična hrana

Najrizičnije namirnice su školjke koje se uzgajaju u vodi s fekalnim onečišćenjem, a konzumiraju se sirove ili kuhane na pari. S obzirom da je virus vrlo otporan na niske temperature, kao i na temperature do 60°C, kao izvor infekcije potencijalno su opasne sve namirnice koje se toplinski ne obrađuju (salate, sendviči, voće). Kako je prijenos bolesti primarno fekalno-oralni i toplinski obrađene namirnice koje su pripremale ili posluživale osobe koje izlučuju virus ili se u njihovoj pripremi i posluživanju koristili kontaminirani predmeti mogu izazvati infekciju norovirusom.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Uzročnika je moguće dokazati u namirnicama radioimunološkom pretragom ili dokazom genoma uzročnika u hrani RT-PCR metodom, ali navedene metode nisu prilagođene za rutinsku primjenu u kontroli higijenske ispravnosti namirnica.

Smanjenje rizika

S obzirom na način širenja bolesti, mjere koje se poduzimaju u svrhu smanjivanja rizika od pojavljivanja epidemija bolesti

primarno su usmjerene na sprječavanje kontaminacije hrane i vode.

Maksimalnu pozornost treba posvetiti higijeni osoba koje sudjeluju u pripremi hrane, a osobe koje su klinički bolesne ne smiju biti u dodiru s hranom najmanje 48-72 sata po prestanku kliničkih simptoma. Po mogućnosti bi djelatnike nakon preboljenja bolesti sljedeća 2 tjedna trebalo premjestiti na drugo radno mjesto koje nije direktno vezano uz pripremu hrane.

Kontaminaciju vode treba sprječavati učestalom kontrolom i sprječavanjem fekalnog zagađenja.

Rizik prijenosa bolesti s osobe na osobu smanjuje se pojačanom osobnom higijenom te nošenjem maski kod ljudi koji su profesionalno izloženi stalnoj mogućnosti infekcije. Kontaminirane predmete treba dezinficirati odgovarajućim sredstvima prema uputama proizvođača.

Specifična imunoprofilaksa norovirusne infekcije ne provodi se u praksi. Rekombinantno cjepivo načinjeno za peroralnu primjenu, kako bi se potaknula lokalna imunost crijevne sluznice, pokazalo je učinkovitu zaštitu u predkliničkim istraživanjima, tako da će specifična imunoprofilaksa u budućnosti predstavljati značajnu mjeru u smanjenju rizika od nastanka i širenja bolesti.

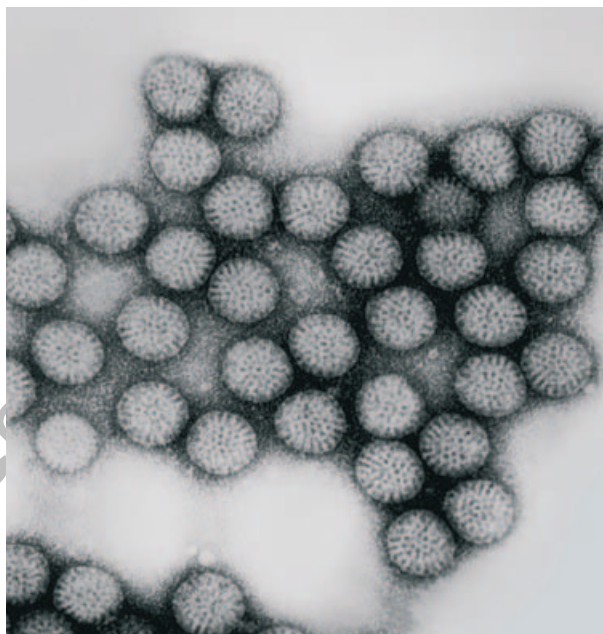
Rotavirusna infekcija

Opis uzročnika

Rotavirusi pripadaju porodici *Reoviridae*, rod *Rotavirus*, a uzrokuju akutne gastroenteritise. Virusi sadrže dvolančanu RNA podijeljenu u 11 segmenata, okruženu dvoslojnom proteinskom kapsidom. Virusna čestica je promjera 70 nm,

a gustoća virusa u gradijentu CsCl iznosi 1.36 g/ml. Virus je rezistentan na uobičajene dezinficijense, a osjetljiv je na klor i klor-dioksid.

Rotavirusi se dijele u sedam seroloških skupina, a pripadnici seroloških skupina A, B i C uzrokuju bolest kod ljudi.



Slika 2. Elektronska mikrofografija **rotavirusa***

*Izvor: Centers for Disease Control and Prevention's Public Health Image Library (PHIL), identifikacijski broj #273.

Drugi nazivi bolesti

Rotavirus uzrokuje akutni gastroenteritis koji se opisuje pod različitim nazivima. Tako se za najučestaliju i najrašireniju infekciju rotavirusom serološke skupine A koriste nazivi dječji proljev, zimski proljev, akutni nebakterijski zarazni gastroenteritis i akutni virusni gastroenteritis.

Hrvatska agencija za hranu

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Bolest se u ljudi dijagnosticira nalazom trofozoita u direktnom razmazu i nalazom cisti flotacijom stolice u zasićenoj otopini cinkova sulfata ili formol etera. Pretragu stolica treba ponavljati tijekom najmanje tri dana ukoliko se odmah ne nađu razvojni oblici. Ciste se lakše pronalaze metodom imunofluorescencije. Zbog velike sličnosti s protozoonom *Entamoeba dispar*, ali i drugim nepatogenim amebama, preporuča se potvrđivanje nalaza metodom lančane reakcije polimeraze. Serološki testovi pogodni su za određivanje protutijela tijekom dugotrajnih invazija i jetrenog oblika bolesti. Ekstraintestinalni oblici bolesti mogu se dijagnosticirati nalazom trofozoita u sputumu i biopsatu. Rendgenografska pretraga prikladna je za otkrivanje apscesa na jetri.

Učestalost bolesti

Invazija je česta u tropskim krajevima. Nije zanemariva ni njena učestalost u suptropskim područjima, osobito u ljudi s niskim higijenskim standardom.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

U većini slučajeva amebe se zadržavaju u probavnom sustavu. Dublja oštećenja stijenke crijeva zabilježena su u manje od 16% slučajeva. U nekim slučajevima amebe se prošire i na druga tkiva, najčešće jetru. Ovaj protozoon je odgovoran i za nastajanje komplikacija na očima i mozgu. Rijetko nastaju i tzv. amebomi koji mogu uzrokovati i opstrukciju crijeva. Smrtni slučajevi su rijetki.

Rizična populacija

Smatra se da su svi ljudi osjetljivi na invaziju. Osobe s oštećenom ili nerazvijenom imunosti, poput onih oboljelih od AIDS-a, su osobito osjetljive.

Rizična hrana

Amebijaza se prenosi cistama, kontaminiranom hranom i vodom, ali i neposrednim dodirima uprljanim rukama ili predmetima.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Hrana se pretražuje temeljitim uzimanjem materijala s površine namirnica te sedimentacijom i filtracijom vode u kojoj je hrana prethodno temeljito isprana.

Smanjenje rizika

U dobro poznatim endemskim područjima treba konzumirati samo komercijalno pripremljenu vodu za piće. Treba izbjegavati konzumiranje leda, sladoleda, salata te neoguljenog voća. Epidemije ove bolesti često nastupaju kao posljedica gnojenja vrtova sadržajem septičkih jama. Prijenos uzročnika od strane osoba zaposlenih u pripremi hrane može se spriječiti redovitim temeljitim kliničkim pregledima koji uključuju parazitološku pretragu stolice. Rizik se može smanjiti i kuhanjem ili dezinficiranjem vode (1,25 g joda / l vode za piće tijekom nekoliko sati). Redoviti pregledi osoba koje rukuju hranom su vrlo važni.

Toxoplasma gondii

Opis uzročnika

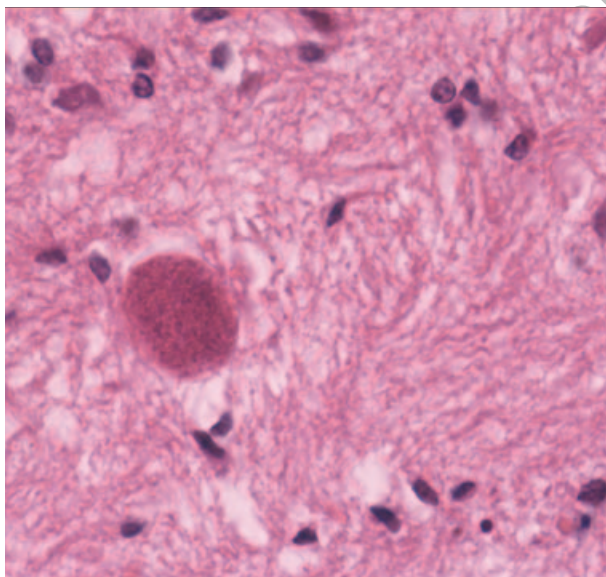
Toxoplasma gondii je kokcidija koja može invadirati gotovo sve vrste stanica (organe i tkiva) s posebnim afinitetom prema mišićnom i živčanom tkivu.

Razvojni ciklus ovog parazita je kompleksan. Spolna se faza odvija samo u crijevnom epitelu mačaka (enteroepitelna faza), a završava s produkcijom oocisti. Oociste u povoljnim uvjetima okoliša za 2 do 5 dana sporuliraju što za posljedi-

cu ima formiranje sporulirane oociste koja sadrži za invaziju sposobne sporozoite. Sporulirane oociste su okruglog oblika veličine od 10 do 13 μm s 9 do 11 μm , s po dvije sporociste od kojih svaka sadrži 4 sporozoita. Oni ujedno predstavljaju i invazijski stadij za sve toplokrvne životinje, uključujući naravno i čovjeka, u kojih se odvija ekstraintestinalna, odnosno tkivna faza razvoja. Smatra se da sporozoiti mogu prodrijeti u gotovo sve stanice koje imaju jezgru. Unutar stanice sporozoit se mijenja i dijeli te se formiraju tahizoiti, razvojni oblici koji se brzo dijele te su nakon pucanja stanice spremni proširiti se makrofagima i prodrijeti u sve stanice i tkiva. S razvojem imunološkog odgovora tahizoiti prelaze u bradizoite koji su manji od tahizoita, sporije se dijele, te se stvara cista koja može sadržavati stotine i tisuće bradizoita (**Slika 1**).

Naziv bolesti

Bolest koju izaziva *T. gondii* naziva se toksoplazmoza.



Slika 1. Tkivna cista *T. gondii* s bradizoitima

Invazijska doza i klinička slika bolesti

Invazijska doza nije poznata i teško ju je odrediti jer se ljudi mogu invadirati sporozoitima i bradizoitima pa je vrlo zahtjevno odrediti i izvor invazije.

Klinička, odnosno manifestna toksoplazmoza može se podijeliti na akutnu, subakutnu, kroničnu ili kongenitalnu. Akutna toksoplazmoza u ljudi karakterizirana je invazijom uzročnika u mezenterijalne limfne čvorove i parenhim jetre. Najčešći simptomi su bolni i otečeni limfni čvorovi područja ispod ključne kosti te preponskog i vratnog područja popraćeni s glavoboljom, povišenom temperaturom, anemijom, bolovima u mišićima i ponekad plućnim komplikacijama. Akutni oblik je posljedica brzog širenja tahizoita koji razaraju invadirane stanice. Posebnu opasnost predstavlja umnažanje parazita u retini i mozgu.

Subakutna toksoplazmoza uglavnom predstavlja produljeni tijek akutne kliničke slike.

Aktivacijom imunološkog sustava bolest prelazi u kronični oblik, no ukoliko se imunitet razvija sporo toksoplazmoza može biti produženog tijeka kada se tahizoiti i dalje umnažaju te izazivaju oštećenja pluća, srca, jetre, mozga i očiju.

Kronični oblik predstavlja prestanak umnažanja tahizoita i formiranje tkivnih cisti s bradizoitima koje mogu postojati i biti neaktivne godinama. U određenim uvjetima pada obrambenog sustava organizma može doći do ponovne aktivacije bradizoita u tahizoite što će za posljedicu imati akutnu toksoplazmozu.

Kongenitalna toksoplazmoza je posljedica transplacentalne invazije fetusa. Ukoliko invazija imunokompetentne osobe nastupi 4 do 6 mjeseci prije začeća imunitet će biti dovoljan da zaštiti vertikalni prijenos (prijenos s majke na plod), no u imunosuprimiranih ne dolazi do zaštite.

Kongenitalna toksoplazmoza može uzrokovati pobačaj, smrt novorođenčeta ili abnormalnosti fetusa. Najteže posljedice, ukoliko fetus preživi, nanosi encefalomijelitis, a ostali karakteristični simptomi intrauterine invazije su retinohoroiditis, intrakratanijalne kalcifikacije i hidrocefalus, koji se manifestiraju u 10% invadiranih. Ostali simptomi novorođenčadi variraju od promjena središnjeg živčanog sustava do nespecifičnih simptoma (konvulzije, anemija, splenomegalija, hepatomegalija, groznica, limfadenopatija).

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Dijagnostika toksoplazmoze u ljudi provodi se serološkim, biološkim, histološkim i molekularnim metodama ili u kombinaciji nekoliko njih. Klinički znakovi toksoplazmoze su nespecifični pa stoga nisu dostatni za postavljanje konačne dijagnoze. Dokazivanje specifičnih protutijela može pomoći u postavljanju dijagnoze. Postoje brojne serološke metode kojima se dokazuje prisustvo protutijela, a one uključuju: Sabin - Feldmanov test bojenjem, indirektnu hemaglutinaciju, indirektnu imunofluorescenciju (IFA), direktan aglutinacijski test, lateks aglutinacijski test (LAT), imunoenzimski test (ELISA) i imunoapsorpcijski aglutinacijski test (IAAT). Ovim testovima mogu se dokazivati imunoglobulinska M (IgM) protutijela kao i imunoglobulinska G (IgG) protutijela. IgM protutijela nastaju ubrzo nakon invazije, dok IgG nastaju kasnije i postoje godinama. Kako bi se sa sigurnošću utvrdilo radi li se o akutnoj toksoplazmozi, a ne o ranijoj invaziji potrebno je pretražiti serume dva puta u razmaku od 2 do 4 tjedna (tzv. parni serumi). Ukoliko je uočljiv porast razine protutijela od najmanje 16 puta tada se sigurno radi o akutnoj invaziji.

Toxoplasma gondii može biti izolirana iz bolesnika i unijeta u laboratorijske životinje (miš) ili nasađena na kulture stanica iz sekreta, ekskreta, tkivnih tekućina i tkiva uzetih biopsijom.

Zadnjih deset godina korištenje lančane reakcije polimeraze (LRP) pridonijelo je točnijoj dijagnostici toksoplazmoze jer se DNK parazita može s velikom točnošću dokazati u amnionskoj tekućini, fetalnom tkivu, krvi, cerebrospinalnoj tekućini, tkivnim, ali i u svim ostalim uzorcima. Za dokazivanje intrauterine invazije točnost se može značajno poboljšati kombiniranjem serološke metode i LRP-a.

Učestalost bolesti

Toxoplasma gondii je kozmopolitski proširen parazit tako da se učestalost značajno mijenja, ovisno o područjima i starosti ciljane populacije. U Hrvatskoj su protutijela dokazana u 38,1% žena s područja okolice Splita. U Europi učestalost varira od svega nekoliko posto pa do gotovo 100% invadiranih. Seroprevalenca u srednjoeuropskim zemljama (Austrija, Belgija, Francuska, Njemačka, Švicarska) iznosi između 37 i 58%, za razliku od nordijskih zemalja gdje se učestalost kreće u rasponu od 11 do 28%.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Bolest u pravilu prolazi bez kliničkih ili s blagim simptomima, no u imunosuprimiranih posebice onih inficiranih HIV-om, ne dolazi do transformacije tahizoita u bradizoite. Posljedica toga je invazija i teško oštećenje svih organa s najčešćom lokalizacijom u moždanom i srčanom tkivu.

Rizična populacija

Rizičnu populaciju predstavljaju imunokompromitirani ljudi, posebice oni koji boluju od imunosuprimirajućih bolesti. Zasebnu skupinu čine trudnice koje nisu bile u kontaktu s parazitom, odnosno nemaju dovoljnu količinu protutijela koja mogu zaštititi i njih i plod od invazije. Toksoplazmoza je također učestala u ljudi koji rade u klaonicama, odnosno koji manipuliraju s mesom. Djeca i stariji ljudi obično imaju puno ozbiljnije simptome nego ostale dobne skupine.

Rizična hrana

Nedovoljno termički obrađeno ili sirovo meso je u velikom broju slučajeva uzrok ove bolesti, no protutijela su dokazana u 47% vegetarijanaca što jasno ukazuje da nedovoljno oprano povrće, ali i voće može biti povezano s toksoplazmozom.

Meso i mesni proizvodi svinja, posebice onih držanih na otvorenom (ekstenzivno držanih), predstavljaju najznačajniji izvor invazije, međutim i meso malih preživača sadrži invazivne oblike u velikom postotku. Meso divljači koje nije dovoljno termički obrađeno također predstavlja značajan izvor i opasnost po ljudsko zdravlje. Posebnu opasnost mogu predstavljati tradicionalni suhomesnati proizvodi (npr. kobasice) jer tkivne ciste mogu preživjeti 50°C barem 10 minuta, a koncentraciju soli (NaCl) do 3% preživljavaju tjedan dana. Nedovoljno termički obrađeno janjeće meso, svježa jetra i drugi organi su također opasni jer dovode do invazije ljudi.

Indirektna kontaminacija radnih površina, vode i pribora sporuliranim oocistama predstavlja rizik za prijenos na hranu, a samim time je olakšana invazija ljudi jer oociste preživljavaju u okolišu i nekoliko godina.

Sirovo kozje mlijeko bilo je uzrok nekoliko epidemija.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Za sada ne postoji «zlatni standard» za dokazivanje *T. gondii* u uzorcima namijenjenim za prehranu ljudi. Najtočnijom metodom smatra se biološki pokus na mačkama koje se hrane mesom, odnosnom tkivima koja se žele pretražiti. Drugi oblik biološkog pokusa je invazija miševa subkutano nakon što se meso razgradi pepsinom te se sediment aplicira. Umjesto miševa sediment se može analizirati i LRP-om, a dokaz karakterističnog fragmenta parazitske DNK se može utvrditi i neposredno iz tkiva. Neposredno se mogu dokazivati protutijela iz seruma ili tkivnih tekućina (npr. mišićni sok).

Smanjenje rizika

Rizik se može smanjiti izbjegavanjem konzumacije nedovoljno termički obrađenog mesa kao i izbjegavanjem konzumacije potencijalno kontaminiranog voća i povrća oocistama podrijetlom iz mačjeg izmeta.

Cryptosporidium hominis *Cryptosporidium parvum*

Opis uzročnika

Sporulirane oociste (veličine 5 x 4,5 µm) sadrže 4 sporozoi- ta koji se izlučuju iz probavnog sustava nosioca, nakon čega se sporozoit oslobađaju i počinju parazitirati na epitelnim stanicama crijeva ili drugim epitelnim stanicama (npr. dišnog sustava). Po invaziji sporozoitima nastavlja se umnažanje parazita shizogonijom, gametogonijom i sporogonijom. Dvije su vrste oocista koje se izlučuju iz konačnog nosioca: one s debelom ovojnicom i one s tankom ovojnicom. Oociste s debelom ovojnicom su izrazito otporne na vanjske uvjete tako da mogu godinama postojati u okolišu, dok su one s tankom ovojnicom odgovorne za autoinvazije. Oociste koje se izlučuju u okoliš su invazivne u trenutku izlučivanja, tako da odmah može doći do direktnog prijenosa fekalno-oralnim putem.

Kriptosporidije su morfološki gotovo jedinstven rod protozoa za koji se danas pouzdano zna da sadrži barem 14 vrsta i više od 30 genotipova od kojih je za njih 7 (*Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium meleagridis*, *Cryptosporidium felis*, *Cryptosporidium canis*, *Cryptosporidium suis* i *Cryptosporidium muris*) i dva genotipa (izoltati iz majmuna i cervida), dokazano da izazivaju bolest u ljudi. Morfološku sličnost ovih parazita moguće je razlučiti jedino primjenom molekularnih metoda kao što je lančana reakcija polimeraze.