

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. Frane Delaš

Prof. dr. sc. Kata Galić

Prof. dr. sc. Đurđa Vasić - Rački

Dr. sc. Boris Habrun

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.

Tisk:

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 nevažećima neke od navedenih informacija.

Sva prava pridržana od strane nakladnika.

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

Sadržaj

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	

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
Oblići koji se prenose hranom	99
<i>Anisakis simplex</i> i ostali oblići iz porodice <i>Anisakidae</i>	99
<i>Ascaris lumbricoides</i>	100
<i>Enterobius vermicularis</i>	102
<i>Trichuris trichiura</i>	103
Oblići iz roda <i>Trichinella</i>	104
Literatura:	109
Rječnik korištenih pojmoveva i kratica	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 inspekcijsama, a također i kao dopunski udžbenik svim srednjoškolcima 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 pojmoveva 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 Kožačinskoj, za 2. dio – virusi prof.dr.sc. Antunu Beusu, prof.dr.sc. Josipu Madić i prof. dr.sc. Lidiji Kožačinskoj, za 3. dio – paraziti akademiku prof.dr.sc. Teodoru Wickerhauser i prof.dr.sc. Branku Richter. Veliko hvala Diani Brlek –Gorski dr. med. koja je zasluzna za stručnu recenziju i uređivanje knjige u cjelini.

Zahvala ide i svim članovima Znanstvenog odbora za biološke, kemijске 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 namijenjeno 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 po-remetnje 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 najsirošnije 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 ekonomski gubitke. Globalizacija prometa hranom danas donosi i nove rizike pa je jasno da nekoć

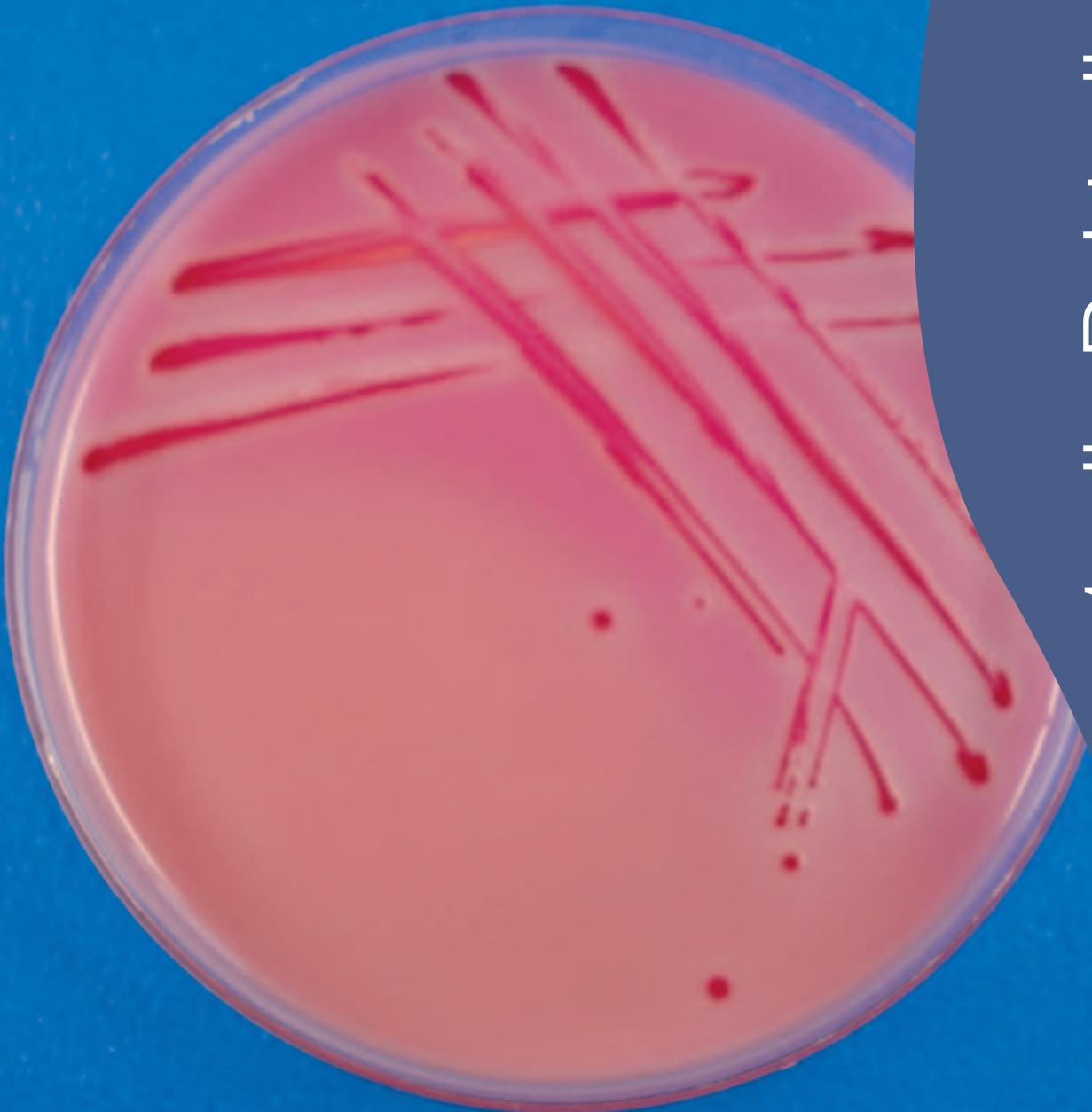
tropski paraziti mogu ugroziti i stanovnike drugih dijelova svijeta. Danas se zna da paraziti koji ugrožavaju stanovništvo u urbanim dijelovima svijeta nisu ružne trakavice i oblići već sitni, golim okom nevidljivi nepozvani gosti u hrani i vodi. Treba naglasiti da je za čovjeka opasno oko 300 različitih vrsta parazita od čega čak 70 vrsta protzoa. 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 dodirom 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 protzoa, 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 njenoj 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 sprječili nastanak epidemija.

Autori

1. dio Bakterije





Uvod

Neki mikroorganizmi koje možemo naći u hrani služe za njezinu proizvodnju (sirevi, vina, fermentirani mlijeko i proizvodi i dr.), neki će pak dovesti do njezina kvarjenja, a patogene vrste ili njihovi toksini uzrokovat će bolest u ljudi koji ih unesu u organizam.

Na temelju epidemioloških podataka koji govore o velikom broju oboljelih, komplikacijama bolesti kao i smrtnom ishodu zbog trovanja hranom, hrani treba posvetiti posebnu pozornost u sustavu proizvodnje, priprave i kontrole.

Hrana ne smije sadržavati patogene i potencijalno patogene mikroorganizme i njihove toksine u količinama štetnim za zdravlje ljudi.

Za nastanak bolesti značajan je status domaćina (dob, imunološki status i dr.), patogenost mikroorganizma kao i matrix i faktori rasta koje bakterija mora dobiti iz okoline. Potrebno je poznavati osnovne značajke mikroorganizama i faktora rasta kako bi uveli mjere prevencije nastanka bolesti koje se prenose hranom.

Ako do „**trovanja hranom**“ dolazi zbog djelovanja samog mikroorganizma u organizmu čovjeka, govorimo o infekciji (*Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *Campylobacter* spp.) Ovisno o uzročniku, različito je vrijeme inkubacije (npr. salmonela 12 do 72 sata), kao i klinička slika bolesti koju najčešće karakteriziraju mučnina, povraćanje, proljev i opći simptomi (temperatura, glavobolja).

Osim djelovanja samog mikroorganizma, do trovanja hranom može doći i djelovanjem otrova kojeg proizvodi bakterija u hrani (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* - emetički otrov) ili otrova koji proizvodi bakterija u probavnom traktu (*Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* - dijarealni otrov). Pri trovanju hranom izazvanom djelovanjem otrova vrijeme inkubacije znatno je kraće i kliničkom slikom dominiraju simptomi koji se odnose na probavni trakt, bez temperature i općih simptoma. Iznimka je izrazito teška klinička slika nastala djelovanjem botulinskog otrova (*Clostridium botulinum*).

Infekcije probavnog trakta masovno su proširene u zemljama nižeg higijenskog standarda, gdje su najčešći uzrok smrti djece do 5 godina. U boljim higijenskim sredinama su mnogo rjeđi, no i dalje su učestali među djecom, siromašnjim grupama stanovništva i osobama oslabljenog imuniteta.

Zarazni proljevi nastaju zbog infekcije sluznice crijeva različitim bakterijama, virusima i parazitima. Kod ovih bolesti najčešće ulazno mjesto uzročnika u organizam jesu usta. Prijenosnici uzročnika zaraznih proljeva vrlo su često različite vrste hrane koje su kontaminirane pojedinim uzročnicima infekcije probavnog trakta. Zbog toga je poznavanje rizične hrane i mogućnosti smanjenja rizika prijenosa pojedinih mikroorganizama hransom jedan od najznačajnijih načina u smanjenju pojavnosti zaraznih proljeva ljudi.

Svrha ovog priručnika je opis bakterija, virusa i parazita koji su najčešći uzročnici infekcija probavnog trakta ljudi, a prenose

se hrnom, dokazivanje u kontaminiranoj hrani i način smanjenja rizika unosa tih infekata u hranidbeni lanac ljudi. Radi lakšeg određivanja načina smanjenja rizika kontaminacije hrane, u drugom dijelu poglavlja o bakterijama opisani su faktori koji utječu na rast i razmnažanje bakterija.

Opisane bakterije u ovom su priručniku podijeljene u dvije skupine: bakterije koje nisu pripadnice porodice *Enterobacteriaceae* i bakterije pripadnice porodice *Enterobacteriaceae*.

Autor

Bakterije koje nisu pripadnici porodice *Enterobacteriaceae*

Aeromonas hydrophila

Opis uzročnika

Pripadnici roda *Aeromonas* su Gram negativne, štapićaste bakterije koje žive u svježoj vodi, a mogu se ponekad naći i u gmazovima, vodozemcima, ribama, tlu i hrani. U rodu *Aeromonas* postoje 3 vrste:

1. *Aeromonas hydrophila*
2. *Aeromonas caviae*
3. *Aeromonas veronii* biovar *sobria*

Po svojim kulturelnim svojstvima, pripadnici roda *Aeromonas* vrlo su slični enterobakterijama. Tvore široku zonu hemolize na krvnom agaru.

Aeromonas (A.) *hydrophila* može uzrokovati bolesti riba, vodozemaca i čovjeka. Čovjek se inficira preko otvorenih rana kupajući se u vodi u kojoj ima aeromonasa ili putem kontaminirane vode ili hrane. Neki sojevi *A. hydrophila* tvore enterotoksin.

Opis bolesti

A. hydrophila može uzrokovati gastroenteritis u zdravih osoba ili septikemiju osoba s narušenim obrambenim sustavom ili osoba koje boluju od malignih bolesti.

A. caviae i *A. sobria* mogu uzrokovati enteritis u zdravih osoba i septikemiju u imunokompromitiranih osoba s malignim bolestima.

Infekcijska doza i klinička slika bolesti

Infekcijska doza nije poznata, ali prema nekim podacima dostatno je popiti malu količinu vode kontaminiranu ovom bakterijom da bi došlo do klinički manifestne bolesti, i da bi *A. hydrophila* bila izdvojena iz fecesa.

Dva različita oblika gastroenteritisa javljaju se nakon infekcija bakterijom *A. hydrophila*. Jedan oblik se očituje vodenim proljevom koji je nalik koleri, dok drugi oblik karakterizira proljev nalik dizenteriji, s puno krvi i sluzi u fecesu. Septikemija se javlja samo u osoba oslabljenog obrambenog sustava.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

A. hydrophila može se izdvojiti iz stolice oboljelih ljudi, izdvajanjem na krvnom agaru kojem se dodaje ampicilin radi selektivnosti. Svojstvo tvorbe enterotoksina izdvojenog soja određuje se testiranjem na kulturi stanica.

Učestalost bolesti

Nije poznata, budući da se javlja sporadično. Vrlo rijetko istodobno izbije u većeg broja ljudi odjednom, što je osnova za sumnju na trovanje hranom. Zbog toga često ne bude točno dijagnosticirana.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Vrlo rijetko oblik bolesti s proljevom nalik dizenteriji poprimi ozbiljan tijek i traje nekoliko tjedana. U ljudi oslabljenog obrambenog sustava uzročnik često prodre u krv i raširi se cijelim organizmom (septikemija). To se najčešće dešava u ljudi koji boluju od leukemije, malignih bolesti i ciroze jetre te u ljudi koji su u vrijeme infekcije pod kemoterapijom.

Rizična populacija

Ljudi svih dobnih skupina osjetljivi su na infekciju ovom bakterijom, a naročito oni oslabljenog obrambenog sustava.

Rizična hrana

A. hydrophila se najčešće nalazi u školjkama i ribama, ali isto tako i u crvenom mesu (svinjetina, govedina, janjetina). Iako nisu poznati svi čimbenici virulencije ove vrste, smatra se da su svi sojevi vrste *A. hydrophila* patogeni za čovjeka.

Dokazivanje uzročnika u hrani

A. hydrophila se izdvaja iz hrane izravnim nacepljivanjem na krvni agar s ampicilinom koji sprječava rast većine ostalih bakterija.

Bacillus cereus

Opis uzročnika

Bacillus (B.) cereus je Gram pozitivna, fakultativno anaerobna bakterija, štapićastog oblika. Sporogena je te tvori termo-stabilne spore. Raste najbolje pri temperaturi od 35°C, ali se može razmnažati i pri temperaturama od 10 do 45°C (*slika 1*) i pri pH od 4,35 do 9,3. Njegove se spore nalaze na tlu, u prašini i na površini voća i povrća. Može lako kontaminirati hranu i



Slika 1. Kolonije vrste *Bacillus cereus* na krvnom agaru nakon 24 sata inkubacije. Vrsta *B. cereus* tvori široku zonu hemolize (iz zbirke Hrvatskog veterinarskog instituta).

namnožiti se u hrani. Bolest uzrokuju dva različita toksina. Do 1970. godine ova bolest nije bila poznata.

Opis bolesti

Otrovanje bakterijom *B. cereus* putem hrane očituje se u dva različita oblika bolesti koja su uzrokovana s dva različita metabolita ove bakterije:

1. dijaroičan oblik bolesti uzrokovani je proteinom velike molekularne mase (enterotoksin), ovaj toksin inaktivira temperaturu od 56,1°C tijekom 5 minuta.
2. oblik bolesti u kojem dominira povraćanje (emetični oblik), koje uzrokuje termostabilni peptid male molekulskе mase. Ovaj toksin ostaje stabilan 90 minuta pri temperaturi od 126°C.

Infekcijska doza i klinička slika bolesti

Znaci bolesti kod dijaroičnog oblika otrovanja bakterijom *B. cereus* slični su onima kod otrovanja bakterijom *Clostridium perfringens* tip A. Vodenasti proljev, grčevi u trbuhi i bol javljaju se 10 do 12 sati nakon konzumacije kontaminirane hrane. Uz proljev se javlja mučnina, dok se povraćanje rijetko očituje. Simptomi obično traju 24 sata.

Oblik bolesti u kojem dominira povraćanje očituje se i mučninom, a nastupa 30 minuta do 6 sati nakon uzimanja kontaminirane hrane. Grčevi u trbuhi i proljev mogu se ponekad javiti. Trajanje simptoma obično je kraće od 24 sata. Znakovi ovog oblika bolesti slični su onima kod stafilokoknog trovanja hranom.

Iz mesa janjadi i peradi kojima su se otrovali ljudi ponekad su izdvojani i sojevi bakterija *Bacillus licheniformis* i *Bacillus subtilis*. Ove bakterije tvore termostabilni toksin koji je sličan termostabilnom peptidu bakterije *B. cereus* koji uzrokuje povraćanje.

Prisustvo velikog broja stanica bakterije *B. cereus* (više od 10⁶ CFU u 1 gramu) u hrani ukazuje na aktivno razmnožavanje

i proliferaciju ove bakterije u hrani pa je čini opasnom za zdravlje ljudi.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Potpwsda trovanja bakterijom *B. cereus* u čovjeka zahtijeva sljedeće:

1. izolaciju istog soja uzročnika iz sumnjive hrane i fecesa ili povraćanog sadržaja čovjeka
2. izdvajanje velikog broja uzročnika iz fecesa ili povraćanog sadržaja oboljelih ljudi
3. izdvajanje bakterije *B. cereus* iz sumnjive hrane i dokaz enterotoksigenosti soja serološkom pretragom (enterotoksin) ili biološkim pokusom (enterotoksin, peptid koji uzrokuje povraćanje).

Iznenadan nastup povraćanja, zajedno s utvrđivanjem sumnjive hrane obično je dovoljan za dijagnozu ovog oblika bolesti u kojem dominira povraćanje.

Učestalost bolesti

Otrovanja uzrokovana toksinima bakterije *B. cereus* česta su u Aziji, Sj. Americi, Australiji i Europi. Često se opisuje u Mađarskoj. U nas je opisano svega nekoliko epidemija.

Tijekom 1980-ih godina, 9 izbjijanja ovog otrovanja u SAD-u bilo je uzrokovano teletinom, puretinom i meksičkom hranom. Godinu dana kasnije zabilježeno je 8 slučajeva uzrokovanih rižom i školjkama. Zasigurno veći broj otrovanja bakterijom *B. cereus* nije prepoznat zbog vrlo sličnih simptoma intoksikacije bakterijom *Staphylococcus aureus* (oblik koji uzrokuje povraćanja) i *Clostridium perfringens* tip A (dijaroični oblik).

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Iako nema specifičnih komplikacija, ova bakterija osim intoksikacije hranom može uzrokovati u čovjeka ozbiljne sistemske i gnojne infekcije, gangrenu, meningitis, celulitis, panoftalmi-

itis (gnojna upala očnih ovojnica), plućne apscese, endokarditis i smrt novorođenčadi.

Rizična populacija

Sve dobne skupine ljudi podjednako su osjetljive.

Rizična hrana

Meso, mlijeko, povrće i riba mogu biti kontaminirani ovim uzročnikom i uzrokovati oblik bolesti s proljevom.

Oblik bolesti s povraćanjem obično je uzrokovan kontaminiranom rižom i rižnim proizvodima. Sirova riža već je obično kontaminirana sporama koje prežive kuhanje na temperaturi vrenja. Ako se riža ostavi na sobnoj temperaturi, spore proklju i stvara se toksin. Podgrijavanje prije konzumacije neće uništiti toksin jer je termostabilan. Ovaj oblik trovanja često je vezan za kineske restorane. Naravno, i drugi proizvodi s velikim udjelom škroba poput krumpira i tijesta te sirevi mogu također biti kontaminirani. Hrana poput umaka, pudinga, juha, kolača, torti i salata često može biti uzrok trovanja bakterijom *B. cereus*.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Razvijen je velik broj metoda za izdvajanje, određivanje broja bakterijskih stanica u hrani i identifikaciju sojeva, no kao službene se koriste sljedeće metode:

1. [HRN EN ISO 7932:2005](#): Mikrobiologija hrane i stočne hrane -- Horizontalna metoda za brojenje *Bacillus cereus* - Tehnika brojenja kolonija pri 30 °C (ISO 7932:2004; EN ISO 7932:2004). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus* - Colony-count technique at 30 degrees C (ISO 7932:2004; EN ISO 7932:2004).
2. [HRN EN ISO 21871:2008](#): Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalna metoda za određivanje malih

brojeva *Bacillus cereus* - Postupak najvjerojatnijeg broja i metoda dokazivanja prisutnosti (ISO 21871:2006; EN ISO 21871:2006) Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the determination of low numbers of presumptive *Bacillus cereus* - Most probable number technique and detection method (ISO 21871:2006; EN ISO 21871:2006).

U novije vrijeme razvijene su i metode za serološko dokazivanje enterotoksina, u koje se ubraja imunoenzimni test (ELISA) kojim se otkriva nazočnost toksina bakterije *B. cereus* u hrani za 24 sata.

Novija istraživanja ukazuju da bi se peptid koji uzrokuje povraćanje mogao dokazivati na kulturi stanica.

Smanjenje rizika

Posljednjih godina u svijetu raste broj oboljenja ljudi nakon konzumacije sirova povrća i voća ili nepasteriziranih proizvoda od voća i povrća. Bakterijske vrste *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* i *Bacillus cereus* normalno se nalaze u tlu na nekim područjima i njihovo prisustvo u sirovu voću i povrću uzgojenu na takvom tlu nije rijetkost.

Pranje voća i povrća kloriranim vodom smanjuje količinu patogenih mikroorganizama, pa tako i *B. cereus* na svježem voću i povrću, ali ih ne može u potpunosti ukloniti.

Smanjenje rizika za lude koji konzumiraju svježe voće i povrće mora se provoditi kontrolom svih koraka gdje je moguća kontaminacija: tijekom pranja, distribucije, u trgovinama, restoranima i kod kuće. Valja imati na umu da će spore bakterije *B. cereus* preživjeti termičku obradu nižim temperaturama, što je naročito bitno kod dehidrirane hrane.

Spore inaktivira temperatura od 100°C tijekom 4 minute, a vegetativne oblike temperature od 60°C tijekom 1 minute. Vidi tablicu 3. na kraju poglavlja.

Campylobacter jejuni

Opis uzročnika

Rod *Campylobacter* ima 14 vrsta od kojih je kao humani patogen najčešće izoliran *Campylobacter jejuni*. S manjom učestalošću javljaju se i *C. coli*, *C. lari* i *C. fetus*.

Bakterijska vrsta *Campylobacter jejuni* podijeljena je u dvije podvrste:

1. *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*, koja je uzročnik infekcija ljudi i životinja
2. *Campylobacter jejuni* subsp. *doulei*, koja je nepatogena.

U nastavku teksta bit će govora isključivo o podvrsti *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*.

Bakterija *Campylobacter jejuni* je Gram negativna bakterija koja ima stanice štapićastog zakriviljenog oblika. Osim zakriviljenih štapićastih stanica, mogu se vidjeti i oblici nalik slovu S, galebovim krilima ili spiralama, i to kada se dvije ili više stanica nalaze zajedno. Vrsta *Campylobacter jejuni* je mikroaerofilna, što znači da joj za rast treba atmosfera sa smanjenom količinom kisika. Zbog toga ova bakterijska vrsta za optimalan rast treba atmosferu s 3 - 5% kisika i 2 - 10% ugljičnog dioksida. Relativno je neotporna na utjecaje okoliša (uništava je npr. 21% kisika, tj. normalna atmosfera, sušenje, grijanje, djelovanje dezinficijensa i kiselina). Rastu pri temperaturi od 32 do 45°C. Bakterije roda *Campylobacter* prilagođene su probavnom traktu toplokrvnih životinja i otežano im je preživljavanja u hrani te se u njoj rijetko umnožavaju. Osjetljivi su na temperaturu kuhanja, pasterizacije, sušenje, snižen pH i koncentracije soli (NaCl) veće od 0,5%. Primjerice, temperatura od 58,3°C uništava ove bakterije za 12 do 21 sekundu.

Danas je dokazano da je ova bakterija značajan uzročnik crijevnih infekcija, ali sve do 1972. godine, kada su razvijene pre-

ciznije laboratorijske metode za izolaciju uzročnika iz feca, vjerovalo se da je ovaj uzročnik primarni uzročnik pobačaja goveda i ovaca (danas se zna da te pobačaje uzrokuje vrsta *Campylobacter fetus*). Istraživanja su pokazala da je *C. jejuni* vodeći uzročnik bakterijskih crijevnih infekcija u SAD-u, te da uzrokuje više oboljenja ljudi nego bakterije pripadnici rodova *Shigella* i *Salmonella* zajedno. U razvijenim zemljama zapada incidencija mu je visoka - oko 1%.

Iako u Europi i SAD-u nije dokazano da su zdravi ljudi klonioše bakterija *C. jejuni*, ona se izdvaja iz 10% naizgled zdravih pasa i 5% mačaka, 2% do 100% naizgled zdravih goveda i 50% sadržaja slijepih crijeva kokoši. Uzročnik se izdvaja iz ptica i muha. Ponekad se ova bakterija može naći i u nekloriranoj vodi za piće.

Budući da su mehanizmi virulencije ove bakterije još uvijek predmet istraživanja, vrlo je teško razlikovati patogene od apatogenih sojeva ove vrste. Čini se da je većina izolata iz populacija patogena.

Naziv bolesti

Bolest se naziva kampilobakterioza, a poznata je i pod nazivom kampilobakterijski enteritis ili gastroenteritis.

Infekcijska doza i klinička slika bolesti

Inkubacija - bolest obično nastaje 2 do 7 dana nakon konzumacije kontaminirane hrane ili vode, dakle inkubacija može biti nešto dulja no u drugih alimentarnih infekcija.

Infekcijska doza - pretpostavlja se da je infekcijska doza mala, oko 10^4 bakterijskih stanica. Istraživanja pokusnih infekcija pokazuju da uzimanje kontaminirane hrane koja sadrži i manji broj bakterija od navedenog može kod nekih osjetljivijih pojedinaca uzrokovati bolest, dok u nekim ta doza mora biti višestruko veća.

Patogeneza - iako patogeni mehanizmi ove bakterije nisu poznati u cijelosti, zna se da tvori termolabilni toksin koji može uzrokovati proljev, a isto tako da je *C. jejuni* invazivna bakterija.

Znakovi bolesti - *C. jejuni* subsp. *jejuni* uzrokuje proljev, koji može biti vodenast ili pastozan i sadržavati krv i leukocite. Ostali simptomi su vrućica, bol u trbuhu, mučnina, glavobolja i bol u mišićima. Bolest obično traje 7 do 10 dana, a povrat bolesti nije rijedak (otprilike u 25% slučajeva, obično kao posljedica nepridržavanja dijete). Ponekad se nekoliko dana nakon početka bolesti javlja osip na koži. Interesantno je da je u novorođenčadi bolest vrlo blaga s krvavim stolicama bez proljeva i vrućice.

Ljudi oslabljenog imuniteta mogu vrlo dugo biti kliconoše, ponovno imati proljev i ozbiljne komplikacije.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

C. jejuni se u dijarničnom fecesu oboljelih ljudi nalazi u velikom broju. Za uspješno izdvajanje se koriste selektivne hranjive podloge koje sadrže antibiotike koji sprječavaju rast ostalih bakterija koje se nalaze u fecesu, budući da *C. jejuni* sporo raste te bi ga druge bakterije koje se nalaze u fecesu prerasle, kao i uzgoy u mikroaerofilnoj atmosferi (5% kisika). *C. jejuni* može rasti i pri temperaturi od 42°C, što olakšava izdvajanje u laboratoriju.

Učestalost bolesti

Campylobacter jejuni subsp. *jejuni* je jedan je od najznačajnijih uzročnika proljeva u ljudi u razvijenim zemljama. Najvjerojatnije broj slučajeva ove infekcije nadmašuje broj slučajeva salmoneloze u SAD-u i EU.

U Hrvatskoj se incidencija kampilobakterioze službeno počela pratiti od početka 2008. godine te je u prvih 6 mjeseci 2008.

godine zabilježeno 443 slučajeva kampilobakterioze čovjeka. Prije toga, tijekom 2006. godine, zabilježena je jedna epidemija sa šest oboljelih osoba.

Slučajevi kampilobakterioze

U načelu izbijanje ove bolesti ne zahvaća puno ljudi, obično manje od 50. Iznimka je bio slučaj u Benningtonu (SAD), gdje je 1986. godine od kampilobakterioze oboljelo oko 2000 ljudi, kada se povremeno koristila neklorirana voda za piće. Zabilježeni su i slučajevi kod konzumacije nekih vrsta školjaka koje nisu bile termički obrađene. Otprilike 50% slučajeva u SAD-u uzrokovano je konzumacijom neadekvatno termički obrađenog pilećeg mesa, što se i danas smatra najučestalijim uzrokom sporadičnih dijareja.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Komplikacije su relativno rijetke, ali se može javiti reaktivni artritis, Guillain - Barréov sindrom (postinfekcijska kljenut mišića) i hemoragijski uremijski sindrom s posljedičnom septikemijom. Komplikacije kod kampilobakterioze iznosi 1 slučaj na 1000 oboljelih (0,1%). U literaturi se navodi i mogućnost pobačaja žena, iako izuzetno rijetko (opisano svega 20 slučajeva). Meningitis, rekurentni (povratni) kolitis, akutni kolestitis su veoma rijetke komplikacije.

Rizična populacija

Iako svaki pojedinac može oboljeti od kampilobakterioze, djeca mlađa od 5 godina i ljudi u dobi od 15 do 29 godina obolijevaju češće od ostalih dobnih skupina. Reaktivni artritis, rijetka komplikacija kampilobakterioze, javlja se u ljudi koji posjeduju humani limfocitni antigen B27 (HLA-B27).

Rizična hrana

Sirova piletina je često kontaminirana ovom bakterijom. To nije iznenadujuće, budući da zdravi pilići u svojim crijevima

mogu imati ovu bakteriju. Sirovo mlijeko može isto biti izvor infekcije. Također, ova se bakterija često nalazi u zdravih goveda i u muhamama. Neklorirana voda za piće također može biti izvor infekcije. Naravno, dobra termička obrada piletine, pasterizacija mlijeka i kloriranje pitke vode ubijaju ovu bakteriju.

Dokazivanje uzročnika hrani

Izdvajanje *C. jejuni* iz hrane je teško zbog toga što je bakterija prisutna obično u vrlo niskoj koncentraciji (za razliku od stolice oboljelih ljudi gdje može biti i do 10^6 CFU *C. jejuni* u gramu stolice).

Postupak je temeljito opisan u normama:

1. [HRN EN ISO 10272-1:2008](#): Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i brojenje *Campylobacter* spp. - 1. dio: Metoda dokazivanja (ISO 10272-1:2006; EN ISO 10272-1:2006): Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. - Part 1: Detection method (ISO 10272-1:2006; EN ISO 10272-1:2006)
2. [HRS ISO/TS 10272-2:2008](#): Mikrobiologija hrane i hrane za životinje -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i brojenje *Campylobacter* spp. - 2. dio: Postupak određivanja broja kolonija (ISO/TS 10272-2:2006): Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. -- Part 2: Colony-count technique (ISO/TS 10272-2:2006)

Izdvajanje može trajati oko tjedan dana.

Razvijeni su i imunoenzimni testovi (ELISA) kojima se unutar 42 sata može pretražiti hrana. Ovo su orientacijski testovi, te ukoliko je rezultat negativan pretraga je gotova. U slučaju

pozitivnog rezultata, pretragu je potrebno nastaviti klasičnim kulturnim metodama.

Postoje i imunokromatografski brzi testovi (GLISA) za dokazivanje *Campylobacter* spp., koji su također orientacijski, a rezultati se mogu polučiti za 46 do 48 sati.

Smanjenje rizika

Budući da je *C. jejuni* osjetljiv na povišenu temperaturu, termička obrada hrane je najbolja prevencija infekcije ovom bakterijom. Vidi tablicu 3. na kraju poglavlja.

Mlijeko - obavezna pasterizacija prije konzumacije.

Piletina - adekvatna termička obrada mesa.

Voda - korištenje klorirane vode za piće.

Iako ljudi mogu biti kliconoše, njihova uloga u širenju infekcije nije u potpunosti razjašnjena.

Clostridium botulinum

Opis uzročnika

Clostridium botulinum je anaerobna, Gram pozitivna, sporogenna bakterija koja tvori jaki neurotoksin. Spore su termostabilne i mogu preživjeti u hrani koja nije dostatno termički obrađena. Većina toksina osloboди se iz bakterije tijekom razmnožavanja u obliku protoksina kojeg aktivira tripsin ili neki drugi proteolitički enzim u probavnom traktu. Kako se neurotoksini pojedinih pripadnika ove vrste razlikuju po antigenosti i toksičnosti, sojevi ove bakterije podijeljeni su u osam toksinskih tipova (A, B, C α , C β , D, E, F i G) i više podtipova. Tip G je u novije vrijeme preimenovan u *Clostridium argentinense*, budući da je izdvojen iz tla u Argentini, a nije zabilježen botulizam uzrokovan ovim tipom.

Tipovi A, B, E i F uzrokuju botulizam u ljudi, a tipovi C i D uglavnom u životinja.

Naziv i opis bolesti

Bolest koju uzrokuje ova bakterija zove se botulizam. Opisana je 1820. godine u Njemačkoj kod ljudi vezano za trovanje kobasicama. Radi toga je prema latinskoj riječi *botulus* (kobasica) van Emergen nazvao bolest i uzročnika. Bolest je opisana u mnogih vrsta domaćih i divljih životinja, posebice divljih ptica.

Postoje četiri vrste botulizma:

1. botulizam uzrokovan hranom (engl. foodborne botulism)
2. dječji botulizam (engl. infant botulism)
3. botulizam rana (ova vrsta nije uzrokovana hranom)
4. nedeterminirani botulizam.

Botulizam je trovanje ljudi uzrokovano konzumacijom hrane koja sadrži moćan neurotoksin koji nastaje tijekom rasta i razmnažanja bakterija *C. botulinum* u hrani. Vegetativne oblike ove bakterije uništava temperatura od 83°C tijekom 1 minute, dok spore uništava temperatura od 85°C tijekom 5 minuta. Toksin je termolabilan i uništava ga termička obrada pri 80°C kroz najmanje 10 minuta. Postoje i druge kombinacije vremena i temperature koje uništavaju ovu bakteriju (vidjeti tablicu 3. na kraju poglavlja o baterijama). Načelno, čim je temperatura viša, potrebno je kraće vrijeme za uništanje bakterija ili toksina.

Incidencija bolesti srećom je niska, s obzirom da uzrokuje veliku smrtnost ako se s terapijom ne započne odmah. U SAD-u je godišnje zabilježeno izbjivanje 10 do 30 epidemija, koje su najčešće posljedica konzumacije neadekvatno konzervirane hrane kod kuće (zimnice i sl.). Kobasice, mesne prerađevine, konzervirano voće i plodovi mora su najučestalije vrste hrane povezane s botulizmom u čovjeka.

Dječji botulizam, koji je prvi put opisan 1976. godine javlja se u djece mlađe od 12 mjeseci, a uzrokovan je bakterijom *C. botulinum* koja kolonizira probavni trakt djeteta i počinje

tvoriti toksin (crijevna toksemija). Najčešći izvor *C. botulinum* kod dječjeg botulizma su tlo, voda iz cisterni, prašina i med, koji je izvor spora *C. botulinum*. Dječji botulizam je opisan u gotovo svim zemljama svijeta.

Botulizam rana je najrjeđi oblik botulizma, a nastaje kada *C. botulinum* sam ili s drugim mikroorganizmima inficira ranu i u njoj počne tvoriti neurotoksin. Hrana nije uzrok ovog oblika botulizma.

Nedeterminirani botulizam uključuje slučajeve botulizma u odraslih u kojih rane ili hrana koja sadrži toksin nisu dokazani kao izvor bolesti. Prepostavlja se da su pojedini slučajevi botulizma koji se ubrajaju u ovu skupinu uzrokovani kolonizacijom crijeva bakterijom *C. botulinum* u odraslih slični kao u dječjeg botulizma. U ovom obliku, pacijenti su imali kirurške zahvate na probavnem traktu ili su bili pod dugotrajnom antibiotskom terapijom. Prepostavlja se da je to dovelo do poremećene ravnoteže normalne crijevne flore, što je omogućilo kolonizaciju i razmnažanje bakterije *C. botulinum* u crijevima.

Infekcijska doza i klinička slika bolesti

Svega nekoliko nanograma neurotoksina dovoljno je za pojavu simptoma bolesti.

Simptomi botulizma uzrokovanih hranom obično se javljaju 18 do 36 sati nakon uzimanja hrane koja sadrži neurotoksin, iako se mogu javljati i 4 sata do 8 dana nakon konzumacije hrane s neurotoksinom. Prvi znaci bolesti su izražena klonulost, mlijavost, umor, vrtoglavica, nakon kojih obično slijede problemi s vidom (dvostrukе slike) i sve veće poteškoće u govoru i gutanju. Otežano disanje, slabost ostalih mišića, napuhnutost trbuha i začep mogu biti simptomi botulizma.

Dječji botulizam očituje se isprva začepom. Nakon začepa javlja se smanjen apetit, letargija, slabost, pojačano slinjenje, jaukanje i jako plakanje. Gubitak kontrole pokreta glave je izražen.

U liječenju se provodi simptomatska terapija, a davanje antibiotika se ne preporuča. Dijagnoza se postavlja izdvajanjem bakterije *C. botulinum* iz feca i dokazivanjem neurotoksina u fecesu.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Iako se dijagnoza često može postaviti na osnovi kliničke slike, diferencijalna dijagnoza ponekad može biti vrlo teška. Za sigurno postavljanje dijagnoze potrebno je dokazati neurotoksine u serumu ili feca bolesnika ili u hrani koju je konzumirao. Najosjetljiviji i najčešće korišten test jest neutralizacijski test na mišu koji traje 48 sati.

Učestalost bolesti

Pojava bolesti je rijetka, ali je smrtnost velika ako oboljeli nisu odmah pravilno liječeni.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Neurotoksin bakterije *C. botulinum* uzrokuje paralizu motoričkih živaca na mioneuralnoj sinapsi (mjesto gdje se živčani impuls prenosi na mišić). Paraliza napreduje simetrično (s obje strane tijela) od glave prema trupu, tako da obično počinje na očima i glavi, nakon čega se širi prema vratu, prsnom košu i ekstremitetima. Kada paraliza zahvati mišiće prsnog koša i ošt (dijafragmu), oboljeli ne može disati i dolazi do smrti zbog gušenja. Terapija botulizma se sastoji od što ranije aplikacije antitoksina i intenzivnog liječenja, koje može uključivati i uporabu respiratora.

Rizična populacija

Svi su ljudi osjetljivi na neurotoksin bakterije *C. botulinum*.

Rizična hrana

Hrana koja uzrokuje botulizam različita je i ovisi o prehrambenim navikama pojedinih zemalja i načinu konzerviranja hrane.

Svaka hrana u kojoj se *C. botulinum* može razmnažati i proizvodi neurotoksin, a koja potom bude obrađena na način koji ne uništava spore uzročnika i nije dostatno termički obrađena tako da inaktivira neurotoksin, može biti uzročnik botulizma.

Gotovo u svim vrstama hrane čiji je pH iznad 4,6 uz anaerobne uvjete moguć je rast *C. botulinum* i tvorba neurotoksina. Neurotoksin *C. botulinum* dokazan je u konzerviranim usoljenim paprikama, mahunama, juhamama, cikli, šparogama, zrelim maslinama, špinatu, tuni, pilećem mesu, pilećoj jetri, jetrenoj pašteti, mesu, šunki, kobasicama, punjenim patlidžanima, jastozima, dimljenoj i usoljenoj ribi.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Kako botulizam nastaje konzumacijom hrane koja sadrži neurotoksin, najznačajnija stvar jest otkrivanje toksina u hrani. Najraširenija metoda je neutralizacijski test na mišu koji se radi na način da se ekstrakt hrane aplicira miševima, od kojih su neki pasivno imunizirani. Test traje 48 sati. Izdvajanje *C. botulinum* iz hrane traje 5 do 7 dana.

Smanjenje rizika

Hrana u restoranima poput povrća s roštilja, pečenog krumpira, salate od krumpira, konzerviranog lososa, sjeckanog češnjaka uzrokovala je velik broj slučajeva botulizma. Također, dimljena riba, bilo hladnim ili toplim dimom, može uzrokovati botulizam izazvan neurotoksinom tipa E.

Budući da se spore bakterija *C. botulinum* nalaze i u tlu, njoime se kontaminiraju biljke koje rastu na tom tlu. Hrana koja se konzervira (proizvodnja konzervi, kiseljenje zimnice i sl.), mora biti kuhanja tijekom 20 minuta, što uništava spore bakterije *C. botulinum*. Kako u mnogim zemljama legislativa zahtijeva ovaj postupak prilikom konzerviranja, komercijalno konzervirana hrana predstavlja sve manji rizik za izbjivanje botulizma. Najveći rizik danas predstavlja hrana koja se konzervira doma (ukiseljavanje povrća za zimnicu) ili vakumirana svježa ribe.

Razmnažanje bakterije *C. botulinum* sprječava pohrana hrane na temperaturi nižoj od 3,3°C najduže 10 dana. U hrani se može spriječiti razmnažanje ove bakterije i tvorba toksina ukoliko je pH hrane niži od 5 ili je koncentracija soli (NaCl) veća od 3,5%, a temperatura pohrane niža od 10°C. Vidi tablicu 3. na kraju poglavlja.

Clostridium perfringens

Opis uzročnika

Clostridium perfringens je anaerobna, Gram pozitivna sporena bakterija. Nalazi se posvuda u okolišu i u probavnom traktu čovjeka i mnogih životinja. Spore ove bakterije mogu se naći u tlu u područjima gdje ima ljudskog i životinjskog feca. *C. perfringens* tvori veliki broj različitih toksina, (α , β , γ , ϵ itd.) pa je unutar vrste bakterija podijeljena u tipove označene slovima od A do E, ovisno o tome koje toksine tvori. *C. perfringens* tip A tvori alfa toksin, a tip C alfa i beta toksin. Zbog toga što tvori više toksina, tip C uzrokuje ozbiljniju bolest od tipa A. Osim alimentarnih infekcija, pripadnici vrste *C. perfringens* uzrokuju u ljudi bolest koja se naziva maligni edem i čitav niz enterotoksemija kod životinja.

Infekcijska doza i klinička slika bolesti

C. perfringens tip A uzrokuje otrovanje koje se očituje blažim znakovima bolesti. Ova se bakterija nalazi posvuda, a najčešći izvor je hrana koja sadrži životinske bjelančevine (oko 25% sirovog mesa kontaminirano je klostridijama). Spore prežive kuhanje, a proklijaju kada hrana stoji nekoliko sati pa i koji dan na visokoj temperaturi. Po učestalosti trovanja hranom u visokorazvijenim zemljama otrovanje tipom A bakterije *C. perfringens* dolazi odmah iza salmoneloza i stafilokoknog trovanja.

C. perfringens tip C uzrokuje otrovanje s težim simptomima i taj se oblik intoksikacije naziva nekrotični enteritis (*jejunitis necroticans*). On se javlja izuzetno rijetko.

Infekcijska doza – kod otrovanja tipom A uzročnika simptomi bolesti očituju se nakon konzumacije velikog broj bakterijskih stanica (više od 10^8 vegetativnih stanica u gramu hrane). Bakterija po dolasku u crijeva tvori toksine koji uzrokuju bolest. Bolest nastane kada se u crijevu stvori dovoljno toksina, za što treba 8 do 24 sata.

C. perfringens tip A - uobičajena alimentarna infekcija ovom bakterijom očituje se snažnim grčevima u trbuhi i proljevom koji se javljaju 8 do 24 sata nakon konzumacije kontaminirane hrane. Vrućice nema. Bolest se obično smiruje nakon 24 sata, ali blaži simptomi mogu se zadržati još jedan do dva tjedna. Zabilježeno je i nekoliko smrtnih slučajeva kao posljedica dehidracije ili drugih komplikacija.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Sumnja se postavlja na osnovu kliničke slike i tipičnog produljenog oblika bolesti (tip A). Dijagnoza se potvrđuje dokazivanjem toksina u fecesu oboljelog čovjeka. Dokaz bakterije u fecesu (osim ako bakterija nije prisutna u izuzetno velikom broju) nije dokaz ove bolesti, jer se bakterija *C. perfringens* nalazi i u crijevima zdravih ljudi. Sigurna dijagnoza je dokaz prisustva toksina u fecesu oboljelih osoba.

Učestalost bolesti

U Hrvatskoj se registrira jedna do dvije epidemije tipom A uzročnika godišnje, iako je broj vjerojatno veći.

Tijekom 2005. godine u Hrvatskoj je zabilježena epidemija otrovanja hranom u dobrovoljnih darivatelja krvi koji su ponuđeni obrokom kuhanih suhih rebara. Razboljelo se 17 od izloženih 80 osoba. U kliničkoj slici dominirao je kratkotrajan proljev bez povišene tjelesne temperature. Kod oboljelih je

izdvojena bakterija *C. perfringens*, koja je izdvojena i iz suhih rebara.

U 2006. godini u Hrvatskoj su zabilježene dvije epidemije sa 60 oboljelih, a u 2007. godini također dvije epidemije s 14 oboljelih osoba.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Bolest obično traje 24 sata (tip A), u starijih osoba i djece bolest može trajati 1 do 2 tjedna. Komplikacije i smrt su veoma rijetki.

Rizična populacija

Ovoj alimetarnoj infekciji su najviše izloženi ljudi koji se hrane u velikim menzama (škole, bolnice, starački domovi, zatvori i sl.) gdje se velike količine hrane pripremaju nekoliko sati prije posluživanja. Djeca i starci su najčešće žrtve ovog otrovanja. U starijih ljudi bolest obično dulje traje ili su izrazitiji simptomi. Komplikacije su rijetke u osoba mlađih od 30 godina, osim kod nekrotičnog enteritisa (tip C), koji je srećom vrlo rijedak.

Rizična hrana

U najvećem broju slučajeva, intoksikacija nastaje jer su spore *C. perfringens* sposobne preživjeti termičku obradu hrane te na sobnoj temperaturi proklju i potom se umnažaju u hrani tijekom čuvanja do konzumacije. Meso, mesni proizvodi i mesni umaci su najčešći izvori intoksikacije ovom bakterijom.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Koristi se standardna bakteriološka kultivacija za dokaz bakterije u hrani. Serološkim testovima toksin se može dokazivati u hrani i fecesu oboljelih ljudi.

Za kontrolu prisutnosti *C. perfringens* u hrani koriste se metode:

1. [HRN ISO 15213:2004](#): Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Horizontalna metoda za brojenje sulfitreducirajućih bakterija u anaerobnim uvjetima (ISO 15213:2003); Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions (ISO 15213:2003).

2. [HRN EN ISO 7937:2005](#): Mikrobiologija hrane i stočne hrane -- Horizontalna metoda za brojenje *Clostridium perfringens* - Tehnika brojenja kolonija (ISO 7937:2004; EN ISO 7937:2004); Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of *Clostridium perfringens* - Colony-count technique (ISO 7937:2004; EN ISO 7937:2004).

Prisustvo toksina može se dokazati imunoenzimskim testovima.

Smanjenje rizika

U velikim kuhinjama potrebno je smanjivati period između pripreme i posluživanja hrane.

Vegetativne oblike ove bakterije ubija temperatura od 59°C tijekom 8 min., a spore temperatura od 99°C tijekom 32 minute.

Listeria monocytogenes

Opis uzročnika

Pripadnici roda *Listeria* su Gram pozitivne bakterije, pokretne pomoću flagela pri temperaturi od 25°C. Ne tvore spore. Rod je podijeljen u 7 vrsta od kojih su *L. monocytogenes* i samo rijetko *L. ivanovii* patogene za čovjeka. Neka istraživanja su pokazala da 1 do 10% ljudi mogu biti klonične bakterije *Listeria*

monocytogenes. Ova vrsta je utvrđena u 37 vrsta sisavaca, 17 vrsta ptica, u riba i školjaka. *L. monocytogenes* je izdvojena iz tla, silaže i gnoja. Prema svojoj otpornosti na kuhanje, hlađenje i sušenje ubraja se među najotpornije nesporogene bakterije. Temperatura od 58°C uništava ju za 5 minuta, a temperatura od 60°C za 3 minute.

Naziv bolesti

Bolest se naziva listerioza.

Infekcijska doza i klinička slika bolesti

Inkubacija - kod listerioze nije točno poznata, ali obično traje od nekoliko dana do tri tjedna. Može biti čak i do 70 dana. Inkubacija kod pojave probavnih poremećaja nije točno utvrđena, ali se prepostavlja da je dulja od 12 sati.

Infekcijska doza - kod *L. monocytogenes* nije poznata, ali se prepostavlja da ovisi o osjetljivosti inficirana čovjeka. Prema slučajevima kada je uzrok bila infekcija sirovim ili nedostatno pasteriziranim mlijekom, prepostavlja se da 1000 bakterijskih stanica može uzrokovati bolest. *L. monocytogenes* može invadirati epitel crijeva. Jednom kada bakterija prodre u monocyte domaćina ili u polimorfonuklearne leukocite, bolest postaje septikemska. *L. monocytogenes* je intracelularna bakterija koja se nalazi u fagocitnim stanicama domaćina i omogućen joj je prodror u mozak i prodror kroz posteljicu do nerođenog djeteta u trudnih žena.

Patogeneza listerioze se najčešće dijelom temelji na činjenici da uzročnik prodire u fagocitne stanice domaćina i umnaža se u njima.

Bolest često započinje simptomima nalik gripi, uključujući stalnu vrućicu. Opisane su i probavne poremetnje poput mučnine, povraćanja i proljeva, koje prate ozbiljnije slučajeve listerioze, a mogu biti i jedini simptomi listerioze čovjeka.

Kod trudnih žena dolazi do infekcija unutar maternice koje rezultiraju spontanim pobačajima u drugoj i trećoj trećini trudnoće ili porodom mrtvorođenog djeteta.

U težim slučajevima može dovesti do septikemije, meningitis-a (ili meningoencefalitisa) i encefalitisa.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Smatra se da čovjek boluje od listerioze kada se uzročnik izdvoji iz krvi, cerebrospinalnog likvora, iz drugog organa koji je normalno sterilan te iz posteljice ili ploda.

Bolest se dokazuje kulturelnim metodama, pomoću kojih se uzročnik izdvaja iz krvi, cerebrospinalnog likvora ili fecesa (izdvajanje iz fecesa je uspješno ako je *L. monocytogenes* izazvala proljev). Koriste se složeni postupci prednamnažanja i namnažanja selektivnim bujonima i agarima. Uzročnik se identificira biokemijskim testovima.

Bolest se može dokazati serološkim pretragama (određivanjem specifičnih protutijela u krvi), no kod tih pretraga valja imati na umu da *L. monocytogenes* ima više serovarova pa se krvni serum mora pretražiti na prisustvo protutijela za sve serovarove.

Učestalost bolesti

Podaci iz SAD-a govore o otprilike 1600 slučajeva godišnje. U Hrvatskoj je od 1998. do 2007. godine registrirano 34 obolele osobe sa znakovima upale mozga i moždanih ovojnica. Godišnje se javljalo od 2 do 8 slučajeva među je mlađom populacijom ljudi (od rođenja do 19 godina) i u ljudi stariji od 40 godina. Nije zabilježena u ljudi u dobi od 20 do 39 godina.

Bolest se može javiti i u obliku epidemija. Do sada je najveća epidemija zabilježena 1992. godine u Francuskoj, kada je oboljelo 279 ljudi, od kojih je 86 umrlo. Na osnovi velikih epidemioloških studija smatra se da je incidencija listerioze 7 oboljelih među milijun stanovnika.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Većina zdravih ljudi i ne očituje nikakve simptome nakon infekcije, a kod ove bolesti se pod komplikacije mogu ubrojiti uobičajeni klinički znakovi bolesti.

Rizična populacija

Rizičnu populaciju čine:

1. trudne žene / fetusi - perinatalne i neonatalne infekcije
2. osobe koje su imunokompromitirane uzimanjem kortikosteroida, lijekovima protiv neoplazmi, oboljeli od AIDS-a
3. oboljeli od raka, naročito od leukemije
4. oboljeli od dijabetesa, ciroze, astme i ulcerativnog kolitisa
5. starije osobe
6. zdravi ljudi - neki slučajevi ukazuju da i zdravi ljudi mogu oboljeti od listerioze, naročito ako koriste antacide ili cimetidin, ili ako u organizam unesu velik broj bakterijskih stanica.

Rizična hrana

Sirovo mlijeko, nedostatno pasterizirano mlijeko, sirevi, sladoled, sirovo povrće, fermentirane kobasice, sirova i kuhanu piletinu, sve vrste sirova mesa, sirova i dimljena riba. Za razliku od većine bakterija koje uzrokuju trovanja hranom. *L. monocytogenes* se umnaža i na temperaturi hladnjaka, dakle i u hrani pohranjenoj u hladnjaku.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Metode pretrage hrane su kompleksne, a uključuju prednmažanje i namnažanje u bujonima i nakon toga nacepljivanje na selektivne agare, te potom biokemijsku identifikaciju uzročnika.

Analitika hrane klasičnom mikrobiološkom metodom izdvajanja uzročnika radi se prema metodama:

1. [HRN EN ISO 11290-1:1999](#): Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Horizontalna metoda za dokazivanje i određivanje broja stanica *Listeria monocytogenes* - 1. dio: Metoda dokazivanja (ISO 11290-1:1996; EN ISO 11290-1:1996); Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* -- Part 1: Detection method (ISO 11290-1:1996; EN ISO 11290-1:1996)
2. [HRN EN ISO 11290-1:1999/A1:2008](#): Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje brojeva *Listeria monocytogenes* - 1. dio: Metoda dokazivanja - Amandman 1: Modifikacija podloge za izolaciju, test hemolize i uključivanje podataka o točnosti (ISO 11290-1:1996/Amd 1:2004; EN ISO 11290-1:1996/A1:2004); Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 1: Detection method - Amendment 1: Modification of the isolation media and the haemolysis test, and inclusion of precision data (ISO 11290-1:1996/Amd 1:2004; EN ISO 11290-1:1996/A1:2004)
3. [HRN EN ISO 11290-2:1999](#): Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Horizontalna metoda za dokazivanje i određivanje broja stanica *Listeria monocytogenes* - 2. dio: Metoda brojenja (ISO 11290-2:1998; EN ISO 11290-2:1998) Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 2: Enumeration method (ISO 11290-2:1998; EN ISO 11290-2:1998)
4. [HRN EN ISO 11290-2:1999/A1:2008](#): Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 2: Enumeration method - Amendment 1: Modification of the enumeration medium (ISO 11290-2:1998/Amd 1:2004; EN ISO 11290-2:1998/A1:2004).

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 kulturalna 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, tetradiama, a najkarakterističnije su nepravilne nakupine stanica u obliku grozda. Stafilococi 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

Stafilocokno trovanje hranom (stafiloenterotoksikoza, stafiloenterotoksemija) 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-

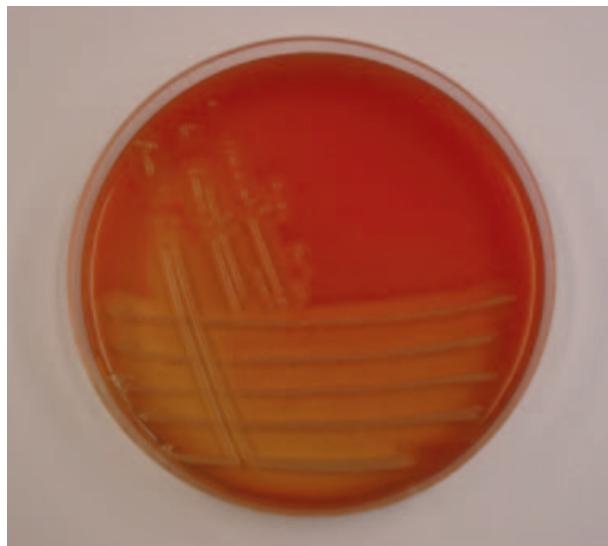
lovanje proteolitičkih enzima. Otrovanja najčešće uzrokuju enterotoksini A i D.

Infekcijska doza i klinička slika bolesti

Količina toksina manja od jednog mikrograma u kontaminiranoj hrani može uzrokovati simptome stafilocokne intoksikacije. Ako u 1 gramu hrane ima 10^5 stanica bakterije *S. aureus* u hrani se može naći količina toksina dostašna 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 trbušu i iscrpljenost. Proljev i povišena temperatura nisu uvjek 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 stafilokokova 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 anamnistički 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 oboljelima 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 zнатне količine ugljikohidrata ili bjelančevina, 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 mlijeko proizvodi. Radi izbjegavanja kontaminacije hrane stafilokokima, treba voditi računa o higijeni objekata i djelatnika te o pravilnoj temperaturi pohrane hrane.

Stafilokoci se nalaze u zraku, prašini, blatu, kanalizaciji, vodi, mlijeku, hrani, opremi koja se koristi u pripremi hrane, površinama u okolišu, životnjama i ljudima. Životinje i ljudi su primarni rezervoari stafilokoka. Stafilokoci 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 prehrabrenoj 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 $7,2^{\circ}\text{C}$).

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-pozi-tivnih stafilocoka (*Staphylococcus aureus* i druge vrste) - 1. dio: Postupak primjene Baird-Parkerove 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-pozi-tivnih 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-pozi-tivnih 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-pozi-tivnih 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 orientacijska metoda i daje rezultat unutar 26 sati.

Hrana se može pretraživati i na prisustvo stafilocoknih enterotoksina. Toksin mora biti odvojen iz hrane i koncentriran prije precipitacije s odgovarajućim antiserumom (antienterotoksin). 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 monoklon-skim protutijelima (ELISA, reverzna pasivna lateks aglutinacija) koje mogu učinkovito otkriti enterotoksin u hrani s preci-znošću otkrivanja 1.0 nanograma enterotoksinsa u hrani.

Smanjenje rizika

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

U Tekasu 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 kuhanja 3 sata, potom je meso bilo odvojeno od kostiju, ohlađeno na sobnu temperaturu, razdijeljeno u manje komade, pohranjeno u duboke aluminijске 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 stafilocoka vjerojatno je nastavljeno u toplim učionicama gdje su učenici čuvali hranu.

Smanjenje rizika stafilocoknog trovanja hranom temelji se na pregledu ljudi koji rade s hranom kako bi se utvrdilo tko je među njima kliconoša stafilocoka. 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, kuglasta ili jajolika oblika. Dijele se samo u jednoj ravnini 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 stjenke, tzv. C-tvar, prema kojoj se streptokoki dijele u skupine od A do W. Ovo razvrstavanje se izvodi reakcijom precipitacije prema Lancefieldovoj.

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, mučnjom, 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 забиљежено 3024 slučajeva šarlaha i 8041 slučaj

streptokokne angine, a u 2007 godini 2483 slučajeva šarlaha i 7120 slučajeva streptokokne angine. Na žalost, ne može se sa sigurnošću tvrditi koliki je dio oboljelih inficiran hranom, a koliko drugim načinima širenja ovih infekcija.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Skupina A – streptokokna upala ždrijela vrlo je česta, naročito u djece. Učinkovito se liječi antibioticima. Komplikacije su rijetke, a može se javiti upala sinusa, srednjeg uha, zglobova, srčanog mišića i jetre.

Rizična populacija

Nisu uočene razlike u prijemčivosti među različitim dobnim skupinama ljudi.

Rizična hrana

Skupina A – mlijeko, sladoled, jaja, riječni rakovi, meso divljaci, salata od krumpira, kremštite, puding, salata od škampa. U svim je slučajevima hrana koja je uzrokovala ovu infekciju bila ostavljena na sobnoj temperaturi nekoliko sati prije pripreme ili konzumacije. Nalaz streptokoka skupine A u hrani rezultat je loše higijene kuhinje, bolesnog osoblja koje priprema hranu ili uporabe nepasteriziranog mlijeka.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Sumnjiva hrana pretražuje se mikrobiološkim metodama. Izdvojeni streptokoki se identificiraju biokemijskim reakcijama i određivanjem C tvari precipitacijom po Lancefieldovoju ili latex aglutinacijom.

Smanjenje rizika

Skupina A streptokoka - izbijanja upala ždrijela i šarlaha bile su mnogobrojne prije uvođenja pasterizacije mlijeka. Izbijanja bolesti najčešće su povezana sa složenom hranom (salate) koja je obično kontaminirana od osoblja koje priprema

hranu i boluje od upale ždrijela i krajnika. Jedna bolesna osoba koja radi u pripremi hrane može biti izvor infekcije za stotine ljudi.

Vibrio cholerae

Opis uzročnika

Bakterija *Vibrio cholerae* ima više od 100 serovara, a serovar O1 je uzročnik kolere čovjeka, bolesti koja je izbijala u obliku epidemija u cijelom svijetu tijekom 19. i početkom 20. stoljeća. Neki slučajevi kolere u SAD-u između 1973. i 1991. bili su uzrokovani konzumacijom sirovih školjaka ili nedovoljno termički obrađenih školjaka. Neka istraživanja ukazuju na činjenicu da se uzročnik može nalaziti u estuarijima i morskim plažama. Tijekom 1991. izbila je pandemija kolere u južnoj Americi.

U jesen 1993. novi soj, koji nije pripadao serovaru O1, uzrokovao je epidemije kolere u Bangladešu i Indiji. Taj serovar O139 (Bengal) uzrokuje istu kliničku sliku kao serovar O1.

Naziv bolesti

Bolest se naziva kolera.

Infekcijska doza i klinička slika bolesti

Inkubacija - od 6 sati do 5 dana

Infekcijska doza – nije točno poznata, vjeruje se oko 10^8 do 10^{10} živih bakterijskih stanica. Kod ljudi koji koriste antacide (lijekove koji neutraliziraju želučanu kiselinu) infekcijska je doza puno manja.

Bolest nastaje unosom živih bakterija kroz usta u organizam, koje se zatim prihvate za resice tankog crijeva i tvore kolera toksin koji uzrokuje nastup vodenog proljeva.

Znakovi kolere mogu varirati od blagog vodenastog proljeva do akutnog, teškog proljeva s karakterističnim "rice water" proljevom. Kod akutnog proljeva u neliječenih ljudi smrtnost iznosi 25 do 50%. Nastup bolesti je nagao, javljaju se grčevi u trbuhu, povraćanje, dehidracija, gubitak elektrolita, šok i, bez terapije, smrtni ishod.

U Hrvatskoj, posljednjih godina nije bilo oboljelih od kolere.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Kolera se dijagnosticira izdvajanjem uzročnika iz fecesa bolesnih ljudi. Kulturalno pripadnici roda *Vibrio* su slični rodu *Aeromonas* te se mora pomoći laboratorijskim testova točno odrediti o kojem je rodu riječ.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Osobe oboljele od kolere trebaju intravensku (ubrizgavanje ljekovitog sredstva u venu) ili peroralnu (davanje ljekovitog sredstva preko usta) rehidraciju. Bolest ima ograničen tijek. Smrt nastupa zbog dehidracije i gubitka elektrolita. Terapija se uvijek temelji na rehidraciji i prevenciji drugih možebitnih komplikacija. Davanje antibiotika skraćuje tijek bolesti.

Rizična populacija

Osjetljivi su ljudi svih dobnih skupina, no pojedinci slabijeg imuniteta i oni sa smanjenim pH želuca su osjetljiviji.

Rizična hrana

Kolera je bolest koja je uzrokvana lošim higijenskim uvjetima nekog područja, prvenstveno mogućnošću kontaminacije vode za piće fecesom bolesnih ljudi (oboljeli ljudi luče uzročnika u svom fecesu 3-4 tjedna, a uzročnik može živjeti u vodi 3 tjedna). Ovo je najčešći način širenja kolere u siromašnim zemljama Južne Amerike.

U razvijenim zemljama gdje vladaju zadovoljavajući higijenski standardi ova je bolest gotovo iskorijenjena. Sporadični slučajevi obično su uzrokovani konzumacijom sirovih školjaka uzgajanih u morskoj vodi zagađenoj ljudskim fekalijama. Kolera može biti čak uzrokvana školjkama koje su uzgajane u čistoj (nekontaminiranoj vodi) ako je *V. cholerae* O1 normalni dio autohtone mikroflore vode u kojoj se školjke uzgajaju.

Dokazivanje uzročnika u hrani

V. cholerae serovar O1 i O139 izdvajaju se iz hrane sličnim laboratorijskim metodama kao i iz fecesa bolesnih ljudi. Postoje patogeni i nepatogeni sojevi oba serovara, zbog čega kod svakog izolata treba dokazati tvori li izolat kolera toksin ili ne.

Smanjenje rizika

Povećavanjem higijenskih standarda u nekoj regiji, izgradnjom vodovodne i kanalizacijske mreže.

Kontrolom vode u zaljevima gdje se uzgajaju školjke i kontrolom školjaka, naročito školjaka koje se konzumiraju sirove.

Vibrio parahaemolyticus

Opis uzročnika

V. parahaemolyticus je halofilna (treba visoku koncentraciju soli za rast) bakterija koja uzrokuje akutni gastroenteritis.

Naziv bolesti

Bolest se naziva gastroenteritis uzrokovan bakterijom *Vibrio parahaemolyticus*.

Inkubacija i klinička slika bolesti

Nakon inkubacije od 12 do 24 sata javlja se mučnina, povraćanje, grčevi u trbuhu, vrućica i vodenast ili rjeđe krvav proljev. Bolest spontano prolazi za 1 do 4 dana bez terapije, izuzev rehidracije i nadoknade elektrolita.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Dijagnostika se provodi mikrobiološkim izdvajanjem uzročnika iz stolice oboljelih ljudi. Raste na krvnom agaru kao oksidaza pozitivna kultura.

Učestalost bolesti

Najčešće se javlja nakon konzumacije hrane poput sirovih školjaka i riba iz mora. Jedan je od glavnih uzročnika otrovanja hranom u Japanu, stoga što je ondje običaj da se jedu sirovi morski plodovi. Bolest je poznata diljem svijeta gdje ljudi jedu sirove školjke. U 2006. godini u Hrvatskoj je zabilježena jedna epidemija s 15 oboljelih osoba.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Bakterija tvori enterotoksin koji uzrokuje gubitak tekućine, a ima sposobnost oštećivanja tkiva s posljedičnim dizenteričnim sindromom (grčevi u trbuhu, krvavo-sluzavi proljev, povišena temperatura). Uglavnom nema komplikacija i dolazi do spontanog ozdravljenja.

Rizična populacija

Podjednako su osjetljivi su ljudi svih dobnih skupina.

Rizična hrana

Posvuda u svijetu infekcija s *V. parahaemolyticus* se povezuje s konzumiranjem sirove morske ribe i školjaka. Ova bakterija ima sposobnost brzog umnažanja u kontaminiranoj hrani

koja je ostavljena na sobnoj temperaturi.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Određivanje bakterije *Vibrio parahaemolyticus* provodi se prema normi:

[HRN ISO 8914:1999](#): Mikrobiologija - Opće upute za dokazivanje *Vibrio parahaemolyticus* (ISO 8914:1990); Microbiology - General guidance for the detection of *Vibrio parahaemolyticus* (ISO 8914:1990).

Smanjenje rizika

Smanjenje rizika je jednostavno - ne jesti sirovu ribu, školjke i rakove.

Ostali pripadnici roda *Vibrio* koji uzrokuju alimentarne infekcije

Vibrio vulnificus

Ova bakterija također živi u morskoj vodi i može uzrokovati ozbiljne ozljede kože osoba koje imaju izravan dodir sa školjkama ili drugim morskim organizmima, a također može uzrokovati enteritis, septikemiju pa i smrt u starih slabih osoba i u imunokompromitiranih osoba.

Vibrio mimicus

Uzrokuje proljev nakon konzumacije sirovih školjaka, poglavito kamenica. Proljevi mogu biti blagi ili teški poput onog u kolere.

Bakterije pripadnici porodice *Enterobacteriaceae*

Porodica *Enterobacteriaceae* ima 51 rod i više od 100 bakterijskih vrsta. Od bakterija koje pripadaju ovoj porodici kao uzročnici probavnih infekcija i intoksikacija značajna je vrsta *Escherichia coli*, pripadnici rođova *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Aerobacter*, *Providencia* i *Serratia*.

Vrsta *E. coli* i rođovi *Salmonella*, *Shigella* i *Yersinia* bit će opisani u zasebnim poglavlјima, a ostali nabrojeni rođovi biti će opisani zajedno u poglavlju "Ostale enterobakterije".

Escherichia coli

Opis uzročnika

Bakterija *Escherichia (E.) coli* (**slika 3 i 4**) je dominantna bakterijska vrsta u crijevima i fecesu. U organizmu čovjeka sprječava razmnažanje patogenih bakterija u crijevu i svojom mjenom tvari sintetizira pojedine vitamine u količini značajnoj za organizam čovjeka.

Samo manji broj sojeva *E. coli* može uzrokovati oboljenja u čovjeka zbog posjedovanja nekih mehanizama virulencije. *Escherichia coli* O157:H7 tvori velike količine toksina koji uzrokuje ozbiljna oštećenja sluznice crijeva. Taj toksin se naziva verotoksin i vrlo je sličan toksinu bakterije *Shigella disenteriae*, zbog čega se još naziva i "shiga – like" toksin. Sojevi *E. coli* koji mogu uzrokovati oboljenja probavnog sustava čovjeka nazivaju se enterovirulentni sojevi.

Enterovirulentni sojevi bakterijske vrste *Escherichia coli* dijele se u slijedeće skupine:

- enterohemoragijska *E. coli* koji pripada serovaru O157:H7
- enterotoksična *E. coli*
- enteropatogena *E. coli*
- enteroinvazivna *E. coli*

- enteroagregatna *E. coli*
- adherentna *E. coli*.

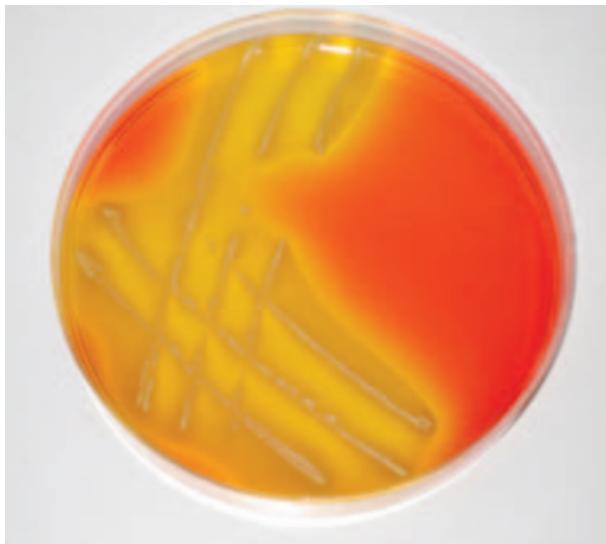
U ovom će poglavlju detaljno biti opisani enterohemoragijska *E. coli*, dok će ostali enterovirulentni sojevi biti opisani zajedno na kraju poglavlja.

Naziv bolesti

Ime akutne bolesti uzrokovane serovarom *E. coli* O157:H7 je hemoragijski kolitis.

Infekcijska doza i klinička slika bolesti

Infekcijska doza nije točno određena. Prepostavlja se da je prilikom izbijanja hemoragijskog kolitisa infekcijska doza mala, kao i kod bakterije *Shigella disenteriae*.



Slika 3. Kolonije vrste *Escherichia coli* na XLD agaru nakon 24 sata inkubacije (iz zbirke Hrvatskog veterinarskog instituta).

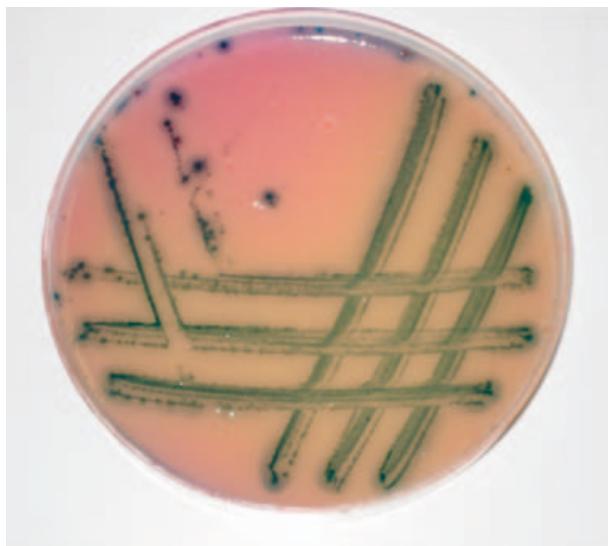
Bolest se očituje snažnim bolovima u trbuhu i proljevom koji je isprva vodenast, a poslije sadrži velike količine krvi. Povraćanje nije uvijek prisutno. Temperatura je neznatno povišena ili normalna. Bolest obično traje oko osam dana, a pojedini oboljeli ljudi imaju samo vodenast proljev.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Hemoragijski kolitis dijagnosticira se izdvajanjem serovara O157:H7 *E. coli* ili drugog serovara koji tvori verotoksin iz feca oboljelih ljudi. Feces može biti izravno pretražen na prisustvo verotoksina. Izvor infekcije se dokazuje na način da se iz sumnjičive hrane izdvoji isti serovar *E. coli* kao i iz feca pacijenta.

Učestalost bolesti

Hemoragijski kolitis nije česta bolest, ali službeni podaci zacijelo ne odražavaju stvarno stanje. U nekim dijelovima SAD-a



Slika 4. Kolonije vrste *Escherichia coli* na Rambach agaru nakon 24 sata inkubacije (iz zbirke Hrvatskog veterinarskog instituta).

intoksikacija s *E. coli* O157:H7 je druga alimentarna infekcija po učestalosti, odmah iza salmonela. U Hrvatskoj do sada nije dijagnosticirana. U slučajevima kada nastupi proljev s vidljivom krvi u fecesu, pacijenti zatraže liječničku pomoći i bolest bude dijagnosticirana, no pretpostavlja se da blaži slučajevi često prolaze bez liječničke pomoći i točne dijagnoze.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Oboljeli ljudi, poglavito djeca, mogu razviti hemolitičko – uremični sindrom kojeg karakteriziraju hemolitička anemija i zatajenje bubrega. Ova bolest može uzrokovati potpuno i nepovratno zatajenje bubrega.

U starije populacije i imunokompromitiranih osoba, uz hemoragijski urinarni sindrom, mogu se javiti vrućica, neurološki znakovi i trombotična trombocitopenična purpura. Kod bolesnika starije populacije ova bolest može izazvati smrtnost od 50%.

Rizična populacija

Sve su dobne skupine ljudi osjetljive prema hemoragijskom kolitisu, ali mala djeca i stariji ljudi obično imaju puno ozbiljnije simptome nego ostale dobne skupine.

Rizična hrana

Nedovoljno termički obrađen hamburger je u velikom broju slučajeva uzrok ove bolesti, no izbijanje hemoragijskog kolitisa često je povezano s nepasteriziranim voćnim sokovima, dimljenim sušenim salamama, zelenom salatom, mesom divljaci i sirovim mlijekom i mlječnim proizvodima (sir).

Dokazivanje uzročnika u hrani

Nekoliko je mikrobioloških metoda razvijeno za izdvajanje serovara O157:H7 iz hrane. Za razliku od ostalih pripadnika roda *E. coli*, serovar O157:H7 ne fermentira sorbitol.

Ovo svojstvo se koristi za selektivno izdvajanje uzročnika pomoći sorbitol MacConkeyeva agara. Može se koristiti sorbitol MacConkeyev agar kojem se dodaju kalij telurit i cefiks, da bi se povećala selektivnost agara.

Za veću osjetljivost materijal se prvo najepljuje na selektivni bujon, a potom na spomenuti agar.

Za određivanje *E. coli* O157 koristi se slijedeća metoda:

[HRN EN ISO 16654:2003](#): Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Horizontalna metoda za otkrivanje *Escherichia coli* O157 (ISO 16654:2001; EN ISO 16654:2001): Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157 (ISO 16654:2001; EN ISO 16654:2001).

Razvijene su i brze metode za dokazivanje toksina i serovara O157:H7. Danas se kao orientacijske metode koriste imunoenzimni test (ELISA) i GLISA (Gold Labelled Immunosorbent Assay) koji traju kraće od klasičnih mikrobioloških metoda.

Razvijene su i molekularne metode.

Ostali enterovirulentni sojevi *E. coli*

Enterotoksična *E. coli*

Enterotoksigeni sojevi imaju mali udio u alimentarnim infekcijama uzrokovanim sojevima *E. coli*. Neki sojevi proizvode termolabilni ili termostabilni toksin. Uglavnom uzrokuju proljev novorođenčadi u zemljama u razvoju, u razvijenim zemljama se javlja kod turista nakon povratka iz zemalja u razvoju. Uzročnik ove bolesti koja je nalik na koleru otkriven je prije tridesetak godina.

Za infekciju treba visoka doza uzročnika (10^9 do 10^{12} stanica uzročnika).

Dijagnosticira se izdvajanjem enterotoksigene *E. coli* iz fecesa oboljelih, a javlja se u zemljama loših higijenskih standarda, gdje je voda za piće kontaminirana ljudskim fekalijama. Bo-

lest može biti uzrokovana i hranom, koju najčešće kontaminiraju inficirani kuvari u restoranima. Bolest se javlja i u ljudi koji putuju u zemlje u razvoju.

U terapiji je bitna rehidracija, naročito novorođenčadi i starijih osoba.

Enteroinvazivna *E. coli*

Enteroinvazivna *E. coli* je po mehanizmu nastanka bolesti vrlo slična bakteriji *Shigella dysenteriae*. U kliničkoj slici dominira proljev s vidljivom većom kolicinom sluzi i krvi, zbog čega se često bez laboratorijske dijagnoze može zamijeniti s baci-larnom dizenterijom. Infekcijska doza je oko 10^3 bakterijskih stanica. U dijagnostici je bitno osim izdvajanja *E. coli* dokazati i enteroinvazivnost izolata na laboratorijskim životinjama. U novije vrijeme razvijene su molekularne metode za dokaz gena koji kodiraju faktore virulencije odgovorne za enteroinvazivnost.

Ne zna se koja je vrsta hrane rizična, ali svaka hrana koja može biti kontaminirana ljudskim fekalijama je potencijalno opasna. Bolest nastupa 12 do 72 sata nakon infekcije, a kao komplikacija se može javiti hemoragijski uremijski sindrom. Hrana se pretražuje istim metodama kojima se dijagnosticira bolest.

Enteropatogena *E. coli*

Epidemije uzrokovane ovim sojevima *E. coli* su jako rijetke, a uzrokuju vodenast ili krvav proljev novorođenčadi. Ova se bakterija priljubljuje uz stanice epitela crijeva i uništava ih. U dijagnostici je bitno da se u sojeva *E. coli* izdvojenih iz fecesa dokaže enteropatogenost serološkim testovima i testovima na kulturi stanica. Najčešći izvor ovih sojeva je sirova govedina i piletina, iako je svaka hrana koja je izložena kontaminaciji ljudskim fekalijama potencijalni izvor infekcije.

Ova se bolest javlja u zemljama s lošim higijenskim standardima. U zemljama Trećeg svijeta od ove infekcije obolijeva novorođenčad hranjen na bočicu (voda !). Infekcija može

izazvati smrtnost i do 50% oboljele novorođenčadi. U analitici hrane bitno je nakon izdvajanja *E. coli* dokazati enteropatogenost izolata, što je zahtjevan posao koji iziskuje dobro opremljen laboratorij.

Salmonella spp.

Opis uzročnika

Pripadnici roda *Salmonella* su Gram negativne, štapićaste bakterije koji se ističu nekim posebnostima u klasifikaciji i nazivlju u odnosu na druge bakterijske rodove. One su pokretne, izuzev serovara *Salmonella Gallinarum* i *Salmonella Pullorum* koji su jedini nepokretni pripadnici roda. Predstavnik roda je *Salmonella enterica* koja se fenotipski i genotipski dijeli na šest podvrsta:

1. *Salmonella enterica* subsp. *arizona*
2. *Salmonella enterica* subsp. *enterica*
3. *Salmonella enterica* subsp. *dairi*
4. *Salmonella enterica* subsp. *houtenae*
5. *Salmonella enterica* subsp. *indica*
6. *Salmonella enterica* subsp. *salamae*.

Gotovo sve salmonele značajne u humanoj i veterinarskoj medicini pripadaju podvrsti *Salmonella enterica* subsp. *enterica*.

Prema antigenim svojstvima unutar vrste *Salmonella enterica* otkriveno je više od 2400 serovarova (serotipova). Valja napomenuti da 69% izolata iz čovjeka pripada serovarovima *Salmonella Enteritidis* i *Salmonella Typhimurium*.

Svaki serovar ima antigenu formulu iz koje se može razaznati koje O (somatske), Vi (kapsularne) i H (flagelarne) antigene posjeduje. Flagelarni antigeni imaju fazu 1 i fazu 2. Svi sero-

varovi iz podvrste *Salmonella enterica* subsp. *enterica* su imenovani, dok serovarovi drugih podvrsta nisu imenovani pa se kod njih piše ime podvrste i antigena formula.

Naziv bolesti

Salmonele u čovjeka uzrokuju dva oblika bolesti:

1. Trbušni tifus

Ovu bolest uzrokuje *Salmonella Typhi*. Izvor infekcije je bolesnik ili kliconoša, koji stolicom i mokraćom izlučuje uzročnika te se na taj način mogu kontaminirati voda i hrana. Rijetko se javlja u zemljama dobrog komunalnog standarda, tako je i u Hrvatskoj danas manje značajna od tzv. netifusnih salmoneliza. U ovu skupinu se ubrajaju *S. Paratyphi B* (Schottmüller), *S. Paratyphi A* i *S. Paratyphi C*. No, *S. Paratyphi A* i *C* već niz godina nisu prisutne u Hrvatskoj.

2. Netifusne salmoneloze

Ovo je danas u razvijenim zemljama najčešći klinički oblik infekcije salmonelama. Obično je uzrokovan serovarovima *S. Enteritidis* (**slika 5 i 6**, dominantan u Hrvatskoj) i *S. Typhimurium*, a može ga uzrokovati od 1500 do 2000 različitih serovara salmonela. Ovaj oblik salmoneloze se naziva enterokolitis (stari naziv gastroenteritis) i najčešće se prenosi hranom.

Neke salmonele (*Salmonella Choleraesuis*, *S. Virchow* i *S. Dublin*) zbog velike invazivnosti uzrokuju bakterijemičnu bolest („salmonelna groznica”, paratifusni sindrom).

Infekcijska doza i klinička slika bolesti

Inkubacija - obično traje 6 do 48 sati.

Infekcijska doza – kod enterokolitisa obično iznosi 10^5 do 10^8 bakterijskih stanica, ovisno o dobi i zdravstvenom stanju inficirane osobe, kao i o serovaru salmonele, budući da neki serovarovi izazivaju ozbiljnu bolest, a drugi ne uzrokuju kliničke znakove bolesti u ljudi.

Razvoj enterokolitisa – salmonele ulaze u probavni trakt kontaminiranom hranom, a potom iz lumena crijeva prodiru u epitel tankog crijeva gdje nastaje upala. Salmonele sadrže endotoksine, a pojedini sojevi koji uzrokuju enterokolitis i proljev tvore citotoksin i egzotoksin slične enterotoksinima bakterije *Escherichia coli*.

Akutni znakovi enterokolitisa – mučnina, povraćanje, grčevi u trbuhu, proljev, vrućica i glavobolja, dok se kao komplikacija javlja artritis (upala zglobova) tri do četiri tjedna nakon nastupa znakova akutnog oboljenja.

Trajanje bolesti – akutni znakovi mogu nestati za 1 do 2 dana ili mogu potrajati dulje, ovisno o zdravstvenom stanju domaćina, količini unesenih bakterijskih stanica i karakteristikama pojedinih serovarova.



Slika 5. Kolonije vrste *Salmonella Enteritidis* na XLD agaru nakon 24 sata inkubacije (iz zbirke Hrvatskog veterinarskog instituta).

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Kulturelno izdvajanje *Salmonella* spp. iz fecesa bolesnog čovjeka primjenom selektivnih hranjivih podloga. Izdvojene salmonele se biokemijski identificiraju i serološki tipiziraju (pomoću odgovarajućih antiseruma) da se utvrdi o kojem je serovaru riječ.

Učestalost bolesti

U Hrvatskoj je tijekom 2006. godine oboljelo ukupno 4734 osobe od salmoneloznog enterokolitisa, od čega su registrirane 52 epidemije sa 756 oboljelih. U 2007. godini oboljela je 3331 osoba, zabilježeno je 36 epidemija s 324 oboljele osobe.

U SAD-u godišnje od salmoneloznog enterokolitisa oboljeva 2 do 4 milijuna ljudi. Incidencija salmoneliza raste u svim industrijaliziranim zemljama, a incidencija infekcije serovarom

S. Enteritidis značajno je porasla tijekom zadnjeg desetljeća, npr. u sjeveroistočnim dijelovima SAD-a incidencija je u zadnjih deset godina povećana 6 puta.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

U tijeku infekcije nekim enteričnim salmonelama (*Salmonella Choleraesuis*, *S. Virchow* i *S. Dublin*) može doći do prodora salmonela iz crijeva u organizam, pa dolazi do ulaska bakterija krv i nastajanja upalnih žarišta u drugim organima, što se dešava u otpriklike 3,3 % oboljelih.

Rizična populacija

Sve dobne skupine ljudi su osjetljive, ali simptomi su puno ozbiljniji u starijih osoba, djece i slabih osoba. Ljudi koji boluju od AIDS-a češće imaju salmonelizu (učestalost 20 puta veća nego u ostale populacije).

Nakon preboljenja infekcije čovjek može biti dulje ili kraće vrijeme kliconoša.

Rizična hrana

Sirovo meso, perad, jaja, mlijeko i mliječni proizvodi, riba, škampi, žablji bataci, kremasti kolači, kakao i čokolada.

Različiti serovarovi salmonela izdvajaju se s vanjske strane ljeske jaja, no *S. Enteritidis* može biti nazočna i u unutrašnjosti jajeta, u žumanjku, što govori o vertikalnom prijenosu salmonela u peradi. Salmonele dospijevaju u žumanjak od inficiranih nesilica. Osim jaja, i druga hrana može uzrokovati infekciju serovarom *S. Enteritidis*.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Izdvajanje salmonela iz hrane detaljno je opisano u normama :

1. [HRN EN ISO 6579:2003](#): Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Horizontalna metoda za otkrivanje *Salmonella* spp (ISO 6579:2002; EN ISO 6579:2002) Microbiology of



Slika 6. Kolonije vrste *Salmonella Enteritidis* na Rambach agaru nakon 24 sata inkubacije (iz zbirke Hrvatskog veterinarskog instituta).

- food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp (ISO 6579:2002; EN ISO 6579:2002)
2. [HRN EN ISO 6579:2003/Ispri.1:2008](#): Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti *Salmonella* spp (ISO 6579:2002/Cor 1:2004; EN ISO 6579:2002/AC:2006); Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp (ISO 6579:2002/Cor 1:2004; EN ISO 6579:2002/AC:2006)
- Ukoliko je uzorak negativan, nema porasta kolonija koje morfološki sliče salmonelama na selektivnim agarima pa pretraga može završiti za 72 sata. Ako na podlogama porastu kolonije koje morfološki nalikuju salmonelama ili su pripadnici roda *Salmonella*, potrebno je daljnje precjepljivanje, biokemijska identifikacija i serološka tipizacija, što može potrajati još 2 do 5 dana.
- Postoje i brze metode koje su znatno kraćeg trajanja od klasičnih kultivacijskih metoda čime se ubrzava postavljanje dijagnoze, a priznate su i validirane od Hrvatskog zavoda za norme i Hrvatske akreditacijske agencije. Najčešća je molekularna, a koristi se i bujonsko obogaćenje i ELISA-u (službena metoda AOAC-a 989.14 i 989.09). Ako u uzorku nema salmonela, pretraga završava za 2 dana, ali ako ELISA da pozitivan rezultat iz bujonskog obogaćenja se pretraga mora nastaviti da bi se na konvencionalan način izdvojile salmonele, jer je tek izdvajanje salmonela potvrda njihove nazočnosti u hrani. Razvijena je i GLISA (Gold Labelled Immunosorbent Assay) koja vremenski traje kao i ELISA.
2. Voda – sprečavanje kontaminacije vode fecesom koji sadrži uzročnika izaziva epidemiju (značajno kod tifoidne groznice). U razvijenim zemljama ovj način širenja bolesti riješen je kvalitetnom vodovodnom infrastrukturom.
3. Mlijeko i mlijecni proizvodi (sladoledi, kreme, sirevi i sl.) mora se spriječiti da se kontaminiraju fecesom, da nisu doстатno pasterizirani ili nisu pravilno pohranjeni (previsoka temperatura pohrane hrane, hrana nije čuvana u hladnjaku).
4. Školjke – treba ih redovito kontrolirati jer mogu biti kontaminirane ako su uzgajane u vodi kontaminiranoj salmonelama.
5. Jaja – značajan su izvor infekcije, radi sprečavanja istog u Hrvatskoj je usvojen i provodi se nacionalni program kontrole salmoneloza peradi. Veoma je važno da su jaja uvijek pohranjena na temperaturi hladnjaka.
6. Meso i mesni proizvodi – mogu biti izvor infekcije ako potječe od inficiranih životinja, radi čega se provodi sustavna kontrola hrane.

Shigella spp.

Opis uzročnika

Pripadnici roda *Shigella* su Gram negativne bakterije, ne tvore spore, nepokretne su i štapićasta oblika. Pripadaju porodici *Enterobacteriaceae*, zajedno sa salmonelama i nekim drugim bakterijama značajnim uzročnicima crijevnih infekcija ljudi. Na temelju antigene strukture i biokemijskih aktivnosti, šigele se dijele u četiri skupine: A, B, C i D (tablica 1). Unutar tih skupina ima više od 40 serovarova. U skupinu A pripada izrazito patogena *Shigella disenteriae* tip 1. Ova bakterija se vrlo rijetko nalazi u životinja, izuzev primata. Nalazi se obično u vodi kontaminiranoj humanim fecesom.

Smanjenje rizika

1. Otkrivanje kliconoša (ljudi bez kliničkih znakova bolesti koji šire uzročnika fecesom), naročito među ljudima koji rade u klaonicama i prehrambenoj industriji (u Hrvatskoj obvezno).

Rod ima nekoliko vrsta od kojih su one patogene za čovjeka prikazane u tablici 1.

Tablica 1. Prikaz vrsta unutar roda *Shigella* i njihova pripadnost antigenim skupinama.

Ime vrste	Antigena skupina
<i>Shigella disenteriae</i> tip 1	A
<i>Shigella flexneri</i>	B
<i>Shigella boydii</i>	C
<i>Shigella sonnei</i>	D

Šigele imaju kompleksnu antigenu strukturu s više od 40 različitih seroloških tipova, no mnogi somatski (O) antigeni šigela jednaki su O antigenima drugih pripadnika porodice *Enterobacteriaceae*.

Naziv bolesti

Bolest se naziva akutna bacilarna dizenterija ili šigelozu.

Infekcijska doza i klinička slika bolesti

Inkubacijsko razdoblje je vrlo kratko i iznosi 12 do 50 sati.

Infekcijska doza - svega 10^3 bakterijskih stanica može izazvati bolest u čovjeka. Kod *S. disenteriae* tip 1 dovoljno je i 100 živih bakterijskih stanica da uzrokuje infekciju (kod salmonela i vibria treba za infekciju i razvoj bolesti 10^5 - 10^8 bakterijskih stanica).

Znakovi bolesti - bol u trbuhu, grčevi, proljev, vrućica, povraćanje. U stolici se mogu naći krv, gnoj ili sluz. Zbog napetosti u trbuhu bolesnici moraju hitno na nužnik (imperativni proljev) ili imaju "lažne pozive" na stolicu. Pojedinačne stolice često čini nekoliko milititara sluzi s krvljem. Nakon ozdravljenja, većina ljudi izlučuje uzročnika fecesom samo tijekom kratkog razdoblja, ali mali broj ljudi postane kloniča i izlučuje uzročnika tijekom duljeg vremenskog razdoblja. Tijekom ozdrav-

ljenja nastaju protutijela za šigele, ali ona ne štite od moguće ponovne infekcije.

Bakterije roda *Shigella* su vrlo infektivne, a šire se hranom, neopranim rukama, fecesom i muhamama. Bolest nastupa kada se virulentni soj roda *Shigella* prihvati za epitel sluznice debelog crijeva i prodre u njega. Nakon invazije, umnaža se u epitelnim stanicama debelog crijeva i širi u susjedne epitelne stanice, što rezultira destrukcijom sluznice crijeva. Svi sojevi, kao i druge enterobakterije, posjeduju endotoksin.

Shigella disenteriae tip 1 tvori termolabilni egzotoksin, tzv. Shiga toksin (vrlo je sličan verotoksinu bakterije *Escherichia coli* O157:H7 zbog čega se verotoksin često naziva shiga-like toxin). Ovaj toksin u ljudi sprječava apsorpciju šećera i aminokiselina iz crijeva, a može uzrokovati i neurološke poremećaje djelujući na središnji živčani sustav, uzrokujući meningitis pa čak i komu.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

U oboljelih ljudi uzročnik se kulturelno izdvaja iz feca koristeći selektivne hranjive podloge koje koče rast drugih enterobakterija i Gram pozitivnih bakterija. Izdvojeni se uzročnik potom serološki tipizira brzom aglutinacijom na predmetnici pomoću specifičnih antiseruma.

Učestalost bolesti

U Hrvatskoj se ova bolest u 2006. i 2007. godini javljala u pojedinačnim slučajevima bez tendencije grupiranja. Tijekom 2006. oboljelo je 16 osoba, a u 2007. 18 osoba.

U SAD-u se godišnje otprilike javlja 300.000 slučajeva bacilarnе dizenterije, dok je vrsta hrane kojom je uzrokovana nepoznata.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Tijekom bolesti nastaju ulceracije (čirevi) u sluznici crijeva, rektalna krvarenja i drastična dehidracija. Smrtnost može

iznosi 10-15% kod infekcije nekim naročito virulentnim sojevima. Reaktivni artritis i hemolitički uremijski sindrom mogu biti komplikacija nastala zbog bacilarne dizenterije. Može se javiti i postdizenterički sindrom, kada nakon preboljenja ove bolesti ljudi imaju kroz neko vrijeme probavne poremetnje zbog oštećenja sluznice crijeva.

Rizična populacija

Djeca, stariji ljudi i osobe koje su oslabljene zbog neke druge bolesti osjetljiviji su na uzročnika, ali i sve ostale dobne skupine ljudi mogu oboljeti od šigeloze. Bacilarna dizenterija je česta komplikacija AIDS-a, a često se nalazi i u homoseksualnih muškaraca koji nisu oboljeli od AIDS-a.

Rizična hrana

Salate (krumpir, tuna, škampi, makaroni i pileće meso), sirovo povrće, mlijeko i mliječni proizvodi i perad. Ovu hranu redovito kontaminira čovjek tijekom prerade i kulinarske obrade, ili kontaminiranom vodom. Dakle, hrana nije primarni izvor infekcije već ljudi klicoноše koji dolaze u dodir s hranom te kontaminirana voda (u područjima loše ili nikakve vodoopskrbne mreže).

Dokazivanje uzročnika u hrani

Pripadnike roda *Shigella* teško je dokazati u hrani, jer se u hrani uzročnik nalazi u vrlo malom broju, a mali broj bakterija je dovoljan za razvoj bolesti u čovjeka.

Danas se koristi metoda:

[HRN EN ISO 21567:2005](#): Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Horizontalna metoda za otkrivanje *Shigella* spp. (ISO 21567:2004; EN ISO 21567:2004) Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Shigella* spp (ISO 21567:2004; EN ISO 21567:2004)

U tijeku je razvoj molekularnih metoda koje bi trebale biti osjetljivije, jer konvencionalne mikrobiološke metode izdvajanja uzročnika nisu dovoljno osjetljive.

Smanjenje rizika

Rizik se smanjuje:

1. sanitarnom kontrolom vode, hrane i mlijeka
2. izdvajanjem oboljelih osoba i dezinfekcijom njihova izmeta
3. otkrivanjem klicoноша, naročito među ljudima koji rade u klaonicama i prehrambenoj industriji (u Hrvatskoj obvezno).

Yersinia enterocolitica

Opis uzročnika

Rod *Yersinia* pripadnik je porodice *Enterobacteriaceae*. Pripadnici ovog roda su štapićaste, Gram negativne bakterije. Vrsta *Yersinia enterocolitica* (**slika 7 i 8**) se često izdvaja iz kliničkih uzoraka poput rana, fecesa, ispljuvka i mezenterijalnih limfnih čvorova. *Yersinia pseudotuberculosis* se izdvaja iz oboljelog slijepog crijeva čovjeka. Ove bakterije se ne nalaze normalno u fecesu čovjeka.

Treći patogeni pripadnik roda *Yersinia* jest vrsta *Yersinia pestis*, uzročnik bubonske kuge čovjeka.

Y. enterocolitica se izdvaja iz glodavaca i domaćih životinja (ovce, goveda, svinje, psi i mačke) i iz vode koju kontaminiraju. Ima više od 50 serovarova, no iz oboljelih ljudi najčešće se izdvajaju serovarovi O:3 i O:9 (Europa) i O:8, O:4, O:32, O:13a, O:13b (Amerika).

Infekcija čovjeka je posljedica konzumacije hrane i vode kontaminirane animalnim fesesom. Prijenos s čovjeka na čovjeka vrlo je rijedak.

Naziv bolesti

Bolest se naziva jersinioza.

Infekcijska doza i klinička slika bolesti

Inkubacija - bolest obično nastaje 24 do 48 sati nakon konzumacije kontaminirane hrane ili vode.

Infekcijska doza - oko 10^8 do 10^9 bakterijskih stanica, što je visoka infekcijska doza.

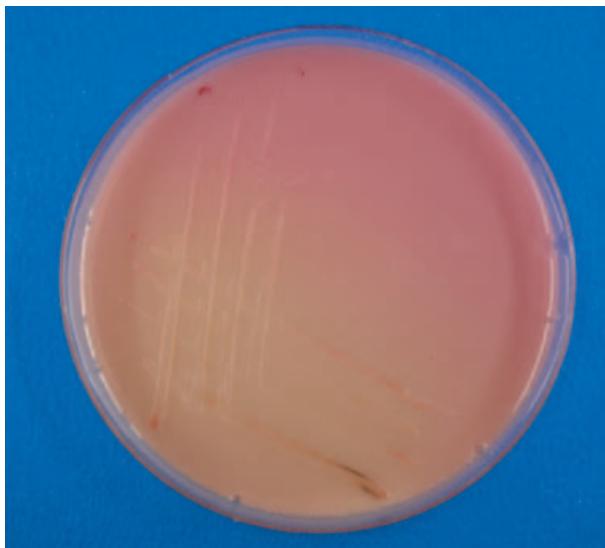
Jersinioza je obično karakterizirana simptomima poput gastroenteritisa s proljevom i/ili povraćanjem, vrućicom i bolovima u trbuhu. U manjeg broja bolesnika mogu se vidjeti primjese krvi u stolici.

U starije djece i mlađih odraslih osoba ova se infekcija često manifestira bolovima u desnom donjem kvadrantu trbuha, inače karakterističnim za upalu slijepog crijeva, a da na sli-

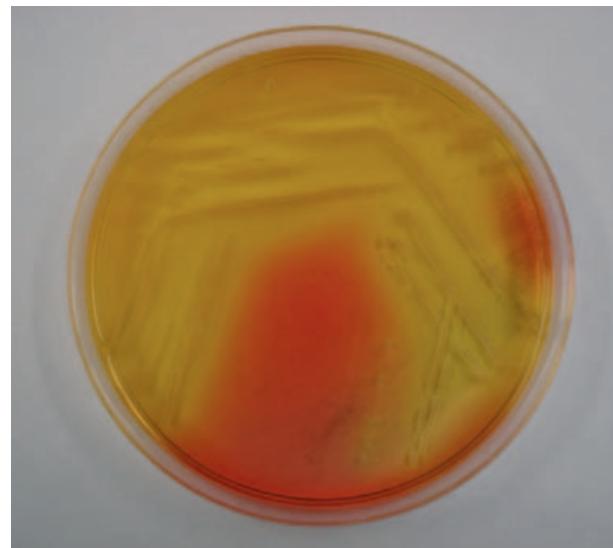
jepom crijevu nema jačih upalnih promjena, već su upaljeni samo mezenterijalni limfni čvorovi.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Dijagnoza jersinioze postavlja se izdvajanjem uzročnika iz feca, krvi, povraćenog sadržaja. Potvrda dijagnoze postavlja se izdvajanjem i identifikacijom uzročnika i njegovom serološkom tipizacijom iz čovjeka i sumnjive hrane. Proljev se javlja u 80% slučajeva, a bol u trbuhi i vrućica su najčešći simptomi. Zbog poteškoća s izdvajanjem *Yersinia* spp. iz feca, u mnogim se zemljama koristi serološka pretraga (određivanje specifičnih protutijela u krvnom serumu). Krv se uzima u akutnoj fazi bolesti i tijekom oporavka bolesnika i pretražuje na prisutnost i količinu specifičnih protutijela za enteropatogene serovarove *Y. enterocolitica*.



Slika 7. Kolonije vrste *Yersinia enterocolitica* na Rambach agaru (iz zbirke Hrvatskog veterinarskog instituta).



Slika 8. Kolonije vrste *Yersinia enterocolitica* na XLD agaru (iz zbirke Hrvatskog veterinarskog instituta).

Jersinioza može biti zamijenjena s upalom slijepog crijeva i Kronovom bolešću.

Učestalost bolesti

Za Hrvatsku nisu dostupni točni podaci za ranije godine, jer se jersinioza službeno evidentira od početka 2008. godine. U prvih 6 mjeseci 2008. godine zabilježena su tri slučaja. Za razliku od većine drugih crijevnih infekcija, jersinioza se češće javlja za hladnih mjeseci. Češće se javlja u sjevernim zemljama (Skandinavske zemlje, Nizozemska, Kanada).

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Kod jersinioze javlja se reaktivni artritis, obično u 2-3% slučajeva nakon probavnih simptoma. Ako infekcija prijeđe u septikemiju, život pacijenta je ugrožen. U diferencijalnoj dijagnostici valja paziti da ova infekcija ne bude zamijenjena s upalom slijepog crijeva zbog bolova u donjem desnom kvadrantu trbuha.

Iznimno, *Y. enterocolitica* može uzrokovati infekcije rana, zglobova i urinarnog trakta. Također može uzrokovati upalu pluća, meningitis ili septikemiju.

Rizična populacija

Prema ovoj infekciji osjetljivija su mala djeca, starija populacija i osobe koje su pod imunosupresivnom terapijom. Od reaktivnog artritisa najčešće obolijevaju ljudi koji na leukocitima posjeduju antigen HLA-B27.

Rizična hrana

Redovito je izvor zaraze za čovjeka kontaminirana hrana životinjskog podrijetla. *Y. enterocolitica* je nađena kod mnogih sisavaca, ptica, žaba, riba, puževa, rakova, školjki i u tlu kontaminiranom životinjskim fekalijama. Meso, mlječni proizvodi i kontaminirana voda obično su uzročnici infekcije čovjeka. Glavni rezervoar serovarova O:3 i O:9 je svinja. Prije-

nos s čovjeka na čovjeka je vrlo rijedak, obično samo unutar obitelji.

Kao uzrok infekcije čovjeka opisani su čokoladno mlijeko, tofu, pijenje neklorirane vode i nepasterizirano kravlje mlijeko.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Za mikrobiološku pretragu hrane na prisutnost bakterije *Yersinia enterocolitica* koristi se sljedeća metoda:

[HRN EN ISO 10273:2004](#): Mikrobiologija hrane i stočne hrane - Horizontalna metoda za dokazivanje suspektne patogene *Yersinia enterocolitica* (ISO 10273:2003; EN ISO 10273:2003); Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of presumptive pathogenic *Yersinia enterocolitica* (ISO 10273:2003; EN ISO 10273:2003)

Smanjenje rizika

Osnova prevencije je ne konzumirati termički neobrađeno svinjsko meso kao i meso drugih životinja. Također treba izbjegavati konzumaciju nepasteriziranog mlijeka.

Yersinia pseudotuberculosis

Infekcija bakterijom *Y. pseudotuberculosis* znatno je rjeđa od infekcije bakterijom *Y. enterocolitica*. I ova je bakterija nađena u mnogih domaćih i divljih životinja kao i u okolišu. Infekcija ljudi nastaje kontaktom sa zaraženim životinjama, preko nepasteriziranog mlijeka ili preko kontaminirane vode. Obolijevaju obično muška djeca u dobi od 5 do 15 godina, za hladnih mjeseci. Patogeneza i klinička slika slične su onoj kod vrste *Y. enterocolitica*, a infekcija se najčešće manifestira proljevom s grčevima u trbuhu, vrućicom i upalom mezenterijalnih lim-

fnih čvorova. Kao komplikacija mogu se javiti sepsa, artritis i hemoragijsko-uremijski sindrom.

Enterobacter sakazakii

Opis uzročnika

Enterobacter sakazakii je gram-negativan štapić, pripada porodici *Enterobacteriaceae*. Nekad je bio poznat i kao žuto pigmentirani *Enterobacter cloacae*.

E. sakazakii je vrlo otporan prema topolini i isušivanju, pa dugo opstaje u okolišu i praškastoj hrani (dulje od 12 mjeseci). Može se razmnažati i na temperaturi hladnjaka.

Naziv bolesti

Bolest nema poseban naziv, obično se govori o bolesti novorođenčadi uzrokovane bakterijom *Enterobacter sakazakii*.

Prva dva poznata slučaja bila su opisana 1961. u SAD-u, u jedinicama intenzivne skrbi za novorođenčad.

Infekcijska doza i klinička slika bolesti

Danas se malo toga zna o infekcijskoj dozi i mehanizmu kojim *E. sakazakii* uzrokuje bolest. Novorođenčad se inficira kontaminiranim pripravcima adaptiranih mlijeka u prahu za novorođenčad.

Inficirana djeca obolijevaju od nekrotične upale crijeva, prodora bakterija u krv, upale moždanih ovojnica i mokraćnih putova, s vrlo visokom smrtnošću koja može biti od 40 % do 80 %.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Sumnja se postavlja na osnovu znakova bolesti, a dijagnoza izdvajanjem uzročnika iz stolice, cerebrospinalnog likvora ili mokraće.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Komplikacije su nažalost, kod ove infekcije vrlo česte. Nakon upale moždanih ovojnica česta su posljedica razni živčani poremećaji, uključujući razvoj hidrocefala (proširenja moždanih klijetki radi nakupljanja tekućine u njima), oduzetost ruku i nogu i zaostajanje u razvoju.

Rizična populacija

Rizična populacija su novorođenčad. Nedonoščad je puno osjetljivija prema ovoj infekciji u odnosu na djecu koja nisu prerano rođena. S porastom dobi djece smanjuje se njihova osjetljivost prema infekciji ovom bakterijom.

Rizična hrana

Rizična hrana je adaptirano mlijeko za novorođenčad koje može biti kontaminirano bakterijom *E. sakazakii*. Ovom bakterijom mogu biti kontaminirani i mlijeko u prahu, riža, različito povrće i začini. U bolnicama je ova bakterija bila izdvajana i sa četki za pranje boćica za novorođenčad i ostale opreme koja se koristi u pripremi hrane za novorođenčad.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Uzročnik se dokazuje izdvajanjem iz hrane konvencionalnim mikrobiološkim metodama, a identificira se određivanjem biokemijskih svojstava.

Smanjenje rizika

U smanjenju rizika svakako treba posvetiti pozornost smanjenju kontaminacije hrane za novorođenčad (tretiranje hrane gama zrakama), kao i kontrola iste. Smanjenje rizika uključuje poticanje majki da doje novorođenčad te upozorenje o mogućnosti da hrana za novorođenčad sadrži u

sebi *E. sakazakii*. Važno je da se jednom pripremljena hrana za novorođenčad odmah daje djetetu, da se neutrošena hrana baci odmah nakon obroka i da se nipošto ponovno ne podgrijava. Posebnu pozornost valja obratiti u jedinicama intenzivne skrbi za novorođenčad, gdje se sav pribor (boce, dude, četke za pranje, ostalo korišteno posuđe) moraju redovito sterilizirati.

Ostale enterobakterije

Opis uzročnika

Kako je ranije navedeno, porodica *Enterobacteriaceae* ima 51 rod i više od 100 bakterijskih vrsta i podvrsta. Osim vrste *E. coli*, pripadnika roda *Salmonella*, *Shigella* i *Yersinia*, koji su posebno opisani u ovom priručniku, alimentare infekcije mogu izazvati i sljedeći bakterijski rodovi unutar porodice *Enterobacteriaceae*:

- *Klebsiella*
- *Proteus*
- *Citrobacter*
- *Aerobacter*
- *Providencia*
- *Serratia*.

Ove bakterije mogu uzrokovati akutne ili kronične želučano-crijevne poremećaje. Nalaze se u okolišu, svježoj vodi i sirovu povrću. Isto tako se mogu izdvojiti iz fecesa zdravih ljudi, bez ikakvih simptoma bolesti. Udio patogenih sojeva unutar ovih roda nije poznat.

Naziv bolesti

Ne postoji poseban naziv, gastroenteritis (upala želuca i crijeva).

Infekcijska doza i klinička slika bolesti

Akutni gastroenteritis se očituje s dva ili više navedenih simptoma: povraćanje, mučnina, vrućica, drhtanje, bol u trbuhi i vodenast proljev koji može uzrokovati dehidraciju. Simptomi se javljaju 12 do 24 sata nakon konzumacije kontaminirane hrane ili vode.

Kronični gastroenteritis očituje se simptomima karakterističnim za dizenteriju: smrdljiv, sluzav proljev, puno vjetrova i nadutost trbuha. Kronični oblik bolesti može trajati mjesecima i zahtijeva antibiotsku terapiju.

Infekcijska doza nije poznata. Oba oblika bolesti, akutni i kronični nastaju zato što bakterije koje ih uzrokuju tvore enterotoksin. Tvorba enterotoksina uvjetovana je posjedovanjem gena koji kodiraju enterotoksin, a ti se geni izmjenjuju među pripadnicima porodice *Enterobacteriaceae* pomoću mobilnog genetskog materijala (plazmida). Plazmidi su kružne tvorbe DNA, koje nisu vezane za kromosom, mogu se umnažati unutar stanice bez umnažanja same bakterijske stanice i potom iz jedne bakterijske stanice pomoću izdanaka (pila) prenašati u drugu bakterijsku stanicu. Tako se osim gena koji kodiraju enterotoksine prenašaju i geni odgovorni za otpornost bakterija prema antibioticima. Primjer je bakterija *Citrobacter freundii*, koja u slučajevima kada izaziva proljev tvori termostabilni toksin identičan termostabilnom toksinu bakterije *E. coli*, od koje je najvjerojatnije prihvatile plazmid s genima za tvorbu tog enterotoksina.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Izdvajanje i identifikacija enterobakterija ovisi o tome koje su selektivne hranjive podloge korištene i kakvi su biokemijski testovi korišteni za završnu identifikaciju bakterija. Tvorba enterotoksina određuje se testiranjem na kulturi stanica, laboratorijskim životnjama, serološkim ili molekularnim metodama. Kako ove bakterije nisu uobičajeni uzročnici proljeva

u ljudi, može ih se u kliničkim laboratorijima previdjeti kao uzročnike probavnih poremećaja.

Učestalost bolesti

Akutni gastroenteritis obično se javlja u nerazvijenim područjima svijeta. Konični oblik ove bolesti je češći u pothranjene djece iz nerazvijenih zemalja koji žive u neprimjerenim higijenskim uvjetima.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Zdrave osobe se brzo oporave od akutnog oblika bolesti bez terapije. Pothranjena djeca (u dobi od 1 do 4 godine) i novorođenčad koja boluje od kroničnog oblika bolesti razviju strukturne i funkcione abnormalnosti u svom probavnom traktu koje rezultiraju oslabljenom apsorcijom hranjivih sastojaka kroz stjenku crijeva.

U ovakvim slučajevima bez liječenja moguć je i smrtni ishod kao posljedica toksičnih učinaka radi malapsorpcije i malnutrikcije.

Rizična populacija

Na akutni oblik bolesti osjetljive su sve dobne skupine ljudi, dok od kroničnog tijeka obolijevaju djeca.

Rizična hrana

Enterobakterije se mogu izdvojiti iz mlječnih proizvoda, sirovih školjaka i svježeg sirovog povrća. Nalaze se u tlu na kojem se gaje usjevi pa tako kontaminiraju povrće. Školjke se kontaminiraju ako se ispiru u vodi u kojoj ima ovih bakterija.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Ovi bakterijski rodovi izdvajaju se na uobičajenim selektivnim hranjivim podlogama za izdvajanje enterobakterija.

Za određivanje ukupnog broja enterobakterija u hrani koriste se sljedeće metode:

1. [HRN ISO 21528-1:2008](#): Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i brojenje *Enterobacteriaceae* - 1. dio: Određivanje prisutnosti i postupak određivanja najvjerojatnijeg broja s prednamnažanjem (ISO 21528-1:2004): Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* - Part 1: Detection and enumeration by MPN technique with pre-enrichment (ISO 21528-1:2004)

1. [HRN ISO 21528-2:2008](#): Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i brojenje *Enterobacteriaceae* - 2. dio: Metoda određivanja broja kolonija (ISO 21528-2:2004): Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* --Part 2: Colony-count method (ISO 21528-2:2004)

Biokemijski testovi služe za identifikaciju bakterija, a testovi na kulturi stanica, laboratorijskim životnjama, serološki i molekularni testovi za dokaz enterotoksigenosti izdvojenih sojeva.

Smanjenje rizika

Infekcije ovim bakterijama ponekad uzrokuju sporadične slučajevne proljeva, ponekad veoma dubiozne etiologije. Nema specifičnih mjera za smanjenje rizika.

Čimbenici koji utječu na rast i razmnažanje bakterija u hrani

Kako bi se bakterije uspješno razmnažale u okolišu u kojem se nalaze (uključivši i hranu kao okoliš bakterija), one moraju imati na raspolaganju određene hranjive tvari, vodu, određeni stupanj kiselosti (pH) i prikladne atmosferske uvjete. Ovi se uvjeti razliku kod pojedinih bakterijskih rodova i vrsta.

Hranjive tvari

Bakterija u okolini mora naći izvor niza čimbenika (ugljik, vodik, kisik, dušik, fosfor, elementi u tragovima) kako bi sintetizirala vlastite makromolekule (ugljikohidrati, lipidi, proteini, nukleinske kiseline). Sintezom vlastitih makromolekula bakterije rastu i razmnažaju se. Bakterija posjeduje niz enzima za razgradnju većih molekula i stvaranje vlastitih makromolekula što čini metabolizam bakterije.

Za odvijanje tih reakcija nužno je prisustvo bakterijskih enzima koje je regulirano genima i određeno faktorima unutar njeg i vanjskog okoliša.

Stupanj kiselosti - pH

Koncentracija iona, a posebice koncentracija vodikovih iona u supstratu igra važnu ulogu u rastu bakterija. Svaka vrsta bakterija ima optimalni pH za rast, zatim maksimum aciditeta (najniži pH) i maksimum alkaliteta (najviši pH). Većini bakterijskih vrsta optimalan pH za rast iznosi oko 7.0 (neutralan) ± 1 jedinica. Većina patogenih bakterija podnosi promjenu pH i do ± 4 jedinice oko neutralnog pH.

Tablica 2. Raspon pH u kojem mogu rasti bakterije, pljesni i gljivice

Vrsta mikroorganizma	pH optimalan	najviši pH	najniži pH
BAKTERIJE	6.5 - 7.5	9.0	4.5
PLIJESNI	4.0 - 6.8	8.0 - 11.0	1.5 - 3.5
KVASCI	4.5 - 6.5	8.0 - 8.5	1.5 - 3.5

Aktivitet vode (a_w)

Svim bakterijama za rast i razmnažanje neophodna je voda. Oduzimanje vode (isušenje) štetno djeluje na bakterije. Pojedine vrste bakterija različito su osjetljive prema isušenju. Neke u isušenom stanju izdrže vrlo kratko (*Vibrio cholerae*), dok druge mogu i godinama ostati žive u suhom stanju (*Staphylococcus aureus*). Aktivitet vode je veličina koja ukazuje na stvarno raspoloživu, slobodnu vodu za metabolizam bakterijske stanice.

Odnos prema kisiku

Odnos prema kisiku je značajna odlika bakterija, a prema tome da li pojedine bakterije rastu uz prisustvo atmosferskog kisika, ili bez njega, dijelimo ih u nekoliko skupina:

1. Obligatni aerobi su bakterije koje rastu isključivo uz prisustvo atmosferskog kisika, npr. pripadnici roda *Bacillus*.
2. Fakultativni anaerobi rastu uz prisustvo atmosferskog kisika, no mogu rasti i bez prisustva atmosferskog kisika npr. pripadnici porodice *Enterobacteriaceae*.
3. Striktni anaerobi mogu rasti isključivo bez prisustva atmosferskog kisika, npr. pripadnici roda *Clostridium*.
4. Aerotolerantni anaerobi rastu u anaerobnim uvjetima, ali mogu rasti i uz prisustvo atmosferskog kisika, npr. pripadnici roda *Lactobacillus*.
5. Mikroaerofilne bakterije su one bakterije kojima za rast treba povećana koncentracija ugljičnog dioksida, npr. pripadnici roda *Campylobacter*.

Temperatura

Kao i svako živo biće, i bakterije imaju za svoj rast optimalnu temperaturu, zatim minimum i maksimum, unutar kojih postoje mogućnosti za rast bakterija.

Bakterije koje se mogu naći u hrani uglavnom dobro rastu pri temperaturi oko 30°C. Optimalna temperatura rasta ima

manji raspon, s time da granica za minimalnu temperaturu rasta nije oštro definirana. Gornja granica ovisi o mogućnosti djelovanja staničnih enzima i samim tim je strogo definirana. Porastom temperature iznad optimalne brz je pad rasta bakterija.

S obzirom na optimalnu temperaturu rasta, bakterije se dijelje na:

- psihrofilne bakterije, čija je optimalna temperatura rasta 15 -20°C, minimalna 0-5°C, a maksimalna 30°C
- mezofilne bakterije, čija je optimalna temperatura rasta 30-40°C, minimalna 10-25°C, a maksimalna 35-50°C
- termofilne bakterije, čija je optimalna temperatura rasta 50-55°C, minimalna 25-45°C, a maksimalna 70-90°C

U skupinu mezofilnih bakterija ubrajaju se bakterije koje se mogu naći u organizmu čovjeka, toplokrvnih i hladnokrvnih životinja, u hrani životinjskog podrijetla, tlu, biljkama i bakterije značajne u fermentacijskoj mikrobiologiji.

Ponekad je dovoljno samo malo povisiti temperaturu iznad maksimuma i već se nekim bakterijama smanjuju životne funkcije. Potraje li to stanje dulje vremena, dio bakterija bit će uništen. Djeluje li se na mezofilne bakterije temperaturom od 56°C jedan sat, uništit će se veći dio patogenih bakterija, osim onih koje tvore spore. Diže li se temperatura dalje, vrijeme potrebno za uništavanje vegetativnih oblika bakterija se skraćuje tako da pri 60°C iznosi 10 minuta, pri 70°C 5 minuta, a pri 80°C 1 minutu.

Naravno, različite bakterije se različito ponašaju, pa je u tablici 3. dan prikaz minimalnih i maksimalnih temperatura, stupnja kiselosti i aktiviteta vode nužnog za rast i razmnažanje bakterija značajnih kao izvora infekcije ili intoksikacije putem hrane. Prikazano je i generacijsko vrijeme (vrijeme potrebno za jednu diobu generacije bakterija) te temperatura i vrijeme potrebno da se broj bakterija smanji za 90 % (pri toj temperaturi).

Spore bakterija

Neke bakterijske vrste tvore spore. Pitanje, zašto neke bakterijske vrste tvore spore a druge ne, nije u potpunosti razjašnjeno. Spore tvore tzv. sporogene bakterije, od kojih su najznačajniji pripadnici rodova *Bacillus* i *Clostridium*. Sporogene bakterije tvore spore kada dospiju u nepovoljne uvjete života, a građene su drukčije od vegetativnih bakterija (relativno malo vlage i debela otporna ovojnica koja je nepropusna), radi čega su puno otpornije na štetne utjecaje od vegetativnih oblika bakterija.

Kada spora dođe u povoljne prilike, iz nje iskljija vegetativni oblik što se naziva germinacija spora.

Tablica 3. Vrijednosti čimbenika koji utječu na rast i razmožavanje mikroorganizama

MIKROORGANIZAM	Temperatura min-maks	pH min-maks	Min.aktivitet vode	Generacijsko vrijeme	90% Redukcije
1. BAKTERIJE KOJE MOGU BITI UZROČNICI INFKECIJE					
<i>Yersinia enterocolitica</i>	od 0 do 44°C	od 4.6 do 9.0			od 10 do 60 s / 62.8°C
<i>Listeria monocytogenes</i>	od 0 do 44°C	od 4.5 do 9.5		7.5 dana / 0°C 41 min / 35°C	4 min i 45 s / 57.8°C 2 min i 45 s / 60°C
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	od 5 do 43°C	od 4.8do 11.0	0.937		48 min i 10 s / 47°C 1 min i 45 s / 60°C
<i>Salmonella spp.</i>	od 2 do 45.6°C	od 4.1 do 9.0	0.92		5 min 25 s do 48 min 20 s / 57°C
<i>Campylobacter jejuni</i>	od 32 do 45°C	od 4.9 do 8.0		50 min / 42°C	12-21 s/58.3°C
2. BAKTERIJE KOJE MOGU TVORITI TOKSINE I/ILI SPOROGENE BAKTERIJE					
<i>Clostridium botulinum</i> , tip E i drugi neproteolitički sojevi	od 3.3 do 45°C	od 5.0 do 9.0	0.97		
Spore:					30 - 45 s / 82.2°C
Toksin:					5 min / 85°C
<i>Staphylococcus aureus</i>	od 6.5 do 50°C	od 4.5 do 9.3	0.83		
Vegetativni oblik:					5min 15 s do 7min 50 s / 60°C
Tvorba toksina:	od 10 do 46°C	od 5.15 do 9.0	0.86		
Toksin:					134 min 10 s / 98.9°C
<i>Bacillus cereus</i>	od 4 do 50°C	od 4.35 do 9.3	0.912	29 min / 23°C	
Vegetativni oblik:					1 min / 60°C
Spore:					2 min 45 s do 3 min 6 s / 100°C
Dijaroični toksin:					5 min / 56.1°C
Emetički toksin:					stabilan 90 min na 126°C
<i>Clostridium botulinum</i> , tip A i proteolitički sojevi tipa B	od 10 do 47.8°C	od 4.6 do 9.0	0.94	72 min / 20°C	
Spore:					8 do 15 s / 121.1°C
Toksin:					5 min / 85°C
<i>Clostridium perfringens</i>	od 15 do 52.3°C	od 5.0 do 8.3	0.95	7 min i 12 s / 41°C	
Vegetativni oblik:					7.2 min / 59°C
Spore:					26-31.4 min / 98.9°C

Preuzeto iz <http://seafood.ucdavis.edu/BBB>, nešto promijenjeno.

Napomena: neke vrijednosti iz tablice 3. navedene su i u tekstu, no u nekim su slučajevima zaokružene.

Tablica 4. Norme za bakteriološke pretrage

MIKROBIOLOŠKI PARAMETAR	NAZIV NORME
<i>Enterobacteriaceae</i>	HRN ISO 5552:1999 Meso i mesni proizvodi -- Dokazivanje prisutnosti i brojenje Enterobacteriaceae bez oživljavanja -- MPN tehnika i tehnika brojenja kolonija (ISO 5552:1997) Meat and meat products -- Detection and enumeration of Enterobacteriaceae without resuscitation -- MPN technique and colony-count technique (ISO 5552:1997)
<i>Escherichia coli</i>	HRN ISO 6391:2002 Meso i mesni proizvodi -- Brojenje Escherichia coli -- Brojenje kolonija pri 44 °C uporabom membrana (ISO 6391:1997) Meat and meat products -- Enumeration of Escherichia coli -- Colony-count technique at 44 degrees C using membranes (ISO 6391:1997)
<i>Salmonella</i> spp	HRN EN ISO 6579:2003 Mikrobiologija hrane i stočne hrane -- Horizontalna metoda za otkrivanje <i>Salmonella</i> spp (ISO 6579:2002; EN ISO 6579:2002) Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of <i>Salmonella</i> spp (ISO 6579:2002; EN ISO 6579:2002)
<i>Salmonella</i> spp	HRN EN ISO 6579:2003/A1:2008 Mikrobiologija hrane i hrane za životinje -- Horizontalna metoda za otkrivanje <i>Salmonella</i> spp. -- Amandman 1: Dodatak D: Otkrivanje <i>Salmonella</i> spp. u životinjskom izmetu i u uzorcima okoliša primarne proizvodnje (ISO 6579:2002/Amd 1:2007; EN ISO 6579:2002/A1:2007) Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of <i>Salmonella</i> spp. -- Amendment 1: Annex D: Detection of <i>Salmonella</i> spp. in animal faeces and in environmental samples from the primary production stage (ISO 6579:2002/Amd 1:2007; EN ISO 6579:2002/A1:2007)
<i>Salmonella</i> spp	HRN EN ISO 6579:2003/lspri.1:2008 Mikrobiologija hrane i hrane za životinje -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti <i>Salmonella</i> spp (ISO 6579:2002/Cor 1:2004; EN ISO 6579:2002/AC:2006) Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of <i>Salmonella</i> spp (ISO 6579:2002/Cor 1:2004; EN ISO 6579:2002/AC:2006)

MIKROBIOLOŠKI PARAMETAR	NAZIV NORME
<i>Staphylococcus aureus</i>	<u>HRN EN ISO 6888-1:2004</u>
	Mikrobiologija hrane i stočne hrane -- Horizontalni postupak brojenja koagulaza-pozitivnih stafilocoka (Staphylococcus aureus i druge vrste) -- 1. dio: Postupak primjene Baird-Parkerove 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 staphylococo (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)
<i>Staphylococcus aureus</i>	<u>HRN EN ISO 6888-2:2004</u>
	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 staphylococo (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)
<i>Staphylococcus aureus</i>	<u>HRN EN ISO 6888-3:2004</u>
	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 staphylococo (Staphylococcus aureus and other species) -- Part 3: Detection and MPN technique for low numbers (ISO 6888-3:2003; EN ISO 6888-3:2003)
<i>Staphylococcus aureus</i>	<u>HRN EN ISO 6888-3:2004/Ispr.1:2008</u>
	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)

MIKROBIOLOŠKI PARAMETAR	NAZIV NORME
<i>Escherichia coli</i>	HRN ISO 7251:2008
	Mikrobiologija hrane i hrane za životinje -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i brojenje Escherichia coli -- Postupak određivanja najvjerojatnijega broja (ISO 7251:2005)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive Escherichia coli -- Most probable number technique (ISO 7251:2005)
<i>Bacillus cereus</i>	HRN EN ISO 7932:2005
	Mikrobiologija hrane i stočne hrane -- Horizontalna metoda za brojenje Bacillus cereus -- Tehnika brojenja kolonija pri 30 °C (ISO 7932:2004; EN ISO 7932:2004)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of presumptive Bacillus cereus -- Colony-count technique at 30 degrees C (ISO 7932:2004; EN ISO 7932:2004)
<i>Clostridium perfigens</i>	HRN EN ISO 7937:2005
	Mikrobiologija hrane i stočne hrane -- Horizontalna metoda za brojenje Clostridium perfigens -- Tehnika brojenja kolonija (ISO 7937:2004; EN ISO 7937:2004)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of Clostridium perfringens -- Colony-count technique (ISO 7937:2004; EN ISO 7937:2004)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	HRN ISO 8914:1999
	Mikrobiologija -- Opće upute za dokazivanje Vibrio parahaemolyticusa (ISO 8914:1990)
	Microbiology -- General guidance for the detection of Vibrio parahaemolyticus (ISO 8914:1990)
<i>Campylobacter</i> spp	HRN EN ISO 10272-1:2008
	Mikrobiologija hrane i hrane za životinje -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i brojenje <i>Campylobacter</i> spp. -- 1. dio: Metoda dokazivanja (ISO 10272-1:2006; EN ISO 10272-1:2006)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for detection and enumeration of <i>Campylobacter</i> spp. -- Part 1: Detection method (ISO 10272-1:2006; EN ISO 10272-1:2006)
<i>Campylobacter</i> spp	HRS ISO/TS 10272-2:2008
	Mikrobiologija hrane i hrane za životinje -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i brojenje <i>Campylobacter</i> spp. -- 2. dio: Postupak određivanja broja kolonija (ISO/TS 10272-2:2006)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for detection and enumeration of <i>Campylobacter</i> spp. -- Part 2: Colony-count technique (ISO/TS 10272-2:2006)

MIKROBIOLOŠKI PARAMETAR	NAZIV NORME
<i>Yersinia enterocolitica</i>	HRN EN ISO 10273:2004
	Mikrobiologija hrane i stočne hrane -- Horizontalna metoda za dokazivanje suspektne patogene <i>Yersinia enterocolitica</i> (ISO 10273:2003; EN ISO 10273:2003)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of presumptive pathogenic <i>Yersinia enterocolitica</i> (ISO 10273:2003; EN ISO 10273:2003)
<i>Listeria monocytogenes</i>	HRN EN ISO 11290-1:1999
	Mikrobiologija hrane i stočne hrane -- Horizontalna metoda za dokazivanje i određivanje broja stanica <i>Listeria monocytogenes</i> -- 1. dio: Metoda dokazivanja (ISO 11290-1:1996; EN ISO 11290-1:1996)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of <i>Listeria monocytogenes</i> -- Part 1: Detection method (ISO 11290-1:1996; EN ISO 11290-1:1996)
<i>Listeria monocytogenes</i>	HRN EN ISO 11290-1:1999/A1:2008
	Mikrobiologija hrane i hrane za životinje -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broje <i>Listeria monocytogenes</i> -- 1. dio: Metoda dokazivanja -- Amandman 1: Modifikacija podloge za izolaciju, test hemolize i uključivanje podataka o točnosti (ISO 11290-1:1996/Amd 1:2004; EN ISO 11290-1:1996/A1:2004)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of <i>Listeria monocytogenes</i> -- Part 1: Detection method -- Amendment 1: Modification of the isolation media and the haemolysis test, and inclusion of precision data (ISO 11290-1:1996/Amd 1:2004; EN ISO 11290-1:1996/A1:2004)
<i>Listeria monocytogenes</i>	HRN EN ISO 11290-2:1999
	Mikrobiologija hrane i stočne hrane -- Horizontalna metoda za dokazivanje i određivanje broja stanica <i>Listeria monocytogenes</i> -- 2. dio: Metoda brojenja (ISO 11290-2:1998; EN ISO 11290-2:1998)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of <i>Listeria monocytogenes</i> -- Part 2: Enumeration method (ISO 11290-2:1998; EN ISO 11290-2:1998)

MIKROBIOLOŠKI PARAMETAR	NAZIV NORME
<i>Listeria monocytogenes</i>	<u>HRN EN ISO 11290-2:1999/A1:2008</u>
	Mikrobiologija hrane i hrane za životinje -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja Listeria monocytogenes -- 2. dio: Metoda određivanja broja -- Amandman 1: Modifikacija podloge za određivanje broja (ISO 11290-2:1998/Amd 1:2004; EN ISO 11290-2:1998/A1:2004)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes -- Part 2: Enumeration method -- Amendment 1: Modification of the enumeration medium (ISO 11290-2:1998/Amd 1:2004; EN ISO 11290-2:1998/A1:2004)
<i>Clostridium perfringens</i>	<u>HRN ISO 15213:2004</u>
	Mikrobiologija hrane i stočne hrane -- Horizontalna metoda za brojenje sulfitreducirajućih bakterija u anaerobnim uvjetima (ISO 15213:2003)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions (ISO 15213:2003)
<i>Escherichia coli</i>	<u>HRN ISO 16649-1:2001</u>
	Mikrobiologija hrane i stočne hrane -- Metoda brojenja beta-glucuronidasa pozitivne Escherichia coli -- 1. dio: Brojenje kolonija pri 44 °C uporabom membranske filtracije i 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide (ISO 16649-1:2001)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive Escherichia coli -- Part 1: Colony-count technique at 44 degrees C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide (ISO 16649-1:2001)
<i>Escherichia coli</i>	<u>HRN ISO 16649-2:2001</u>
	Mikrobiologija hrane i stočne hrane -- Metoda brojenja beta-glucuronidasa pozitivne Escherichia coli -- 2. dio: Brojenje kolonija pri 44 °C uporabom 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide (ISO 16649-2:2001)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive Escherichia coli -- Part 2: Colony-count technique at 44 degrees C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide (ISO 16649-2:2001)
<i>Escherichia coli</i>	<u>HRS ISO/TS 16649-3:2008</u>
	Mikrobiologija hrane i hrane za životinje -- Horizontalna metoda za brojenje beta-glucuronidase-pozitivne Escherichia coli -- 3. dio: Postupak najvjerojatnijeg broja upotrebom 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-beta-D-glucuronida (ISO/TS 16649-3:2005)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive Escherichia coli -- Part 3: Most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-beta-D-glucuronide (ISO/TS 16649-3:2005)

MIKROBIOLOŠKI PARAMETAR	NAZIV NORME
<i>Escherichia coli</i> O157	HRN EN ISO 16654:2003
	Mikrobiologija hrane i stočne hrane -- Horizontalna metoda za otkrivanje <i>Escherichia coli</i> O157 (ISO 16654:2001; EN ISO 16654:2001)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of <i>Escherichia coli</i> O157 (ISO 16654:2001; EN ISO 16654:2001)
<i>Enterobacteriaceae</i>	HRN ISO 21528-1:2008
	Mikrobiologija hrane i hrane za životinje -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i brojenje <i>Enterobacteriaceae</i> -- 1. dio: Određivanje prisutnosti i postupak određivanja najvjerojatnijeg broja s prednamnažanjem (ISO 21528-1:2004)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal methods for the detection and enumeration of <i>Enterobacteriaceae</i> -- Part 1: Detection and enumeration by MPN technique with pre-enrichment (ISO 21528-1:2004)
<i>Enterobacteriaceae</i>	HRN ISO 21528-2:2008
	Mikrobiologija hrane i hrane za životinje -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i brojenje <i>Enterobacteriaceae</i> -- 2. dio: Metoda određivanja broja kolonija (ISO 21528-2:2004)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal methods for the detection and enumeration of <i>Enterobacteriaceae</i> -- Part 2: Colony-count method (ISO 21528-2:2004)
<i>Shigella</i> spp.	HRN EN ISO 21567:2005
	Mikrobiologija hrane i stočne hrane -- Horizontalna metoda za otkrivanje <i>Shigella</i> spp. (ISO 21567:2004; EN ISO 21567:2004)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of <i>Shigella</i> spp (ISO 21567:2004; EN ISO 21567:2004)
<i>Bacillus cereus</i>	HRN EN ISO 21871:2008
	Mikrobiologija hrane i hrane za životinje -- Horizontalna metoda za određivanje malih brojeva <i>Bacillus cereus</i> -- Postupak najvjerojatnijeg broja i metoda dokazivanja prisutnosti (ISO 21871:2006; EN ISO 21871:2006)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the determination of low numbers of presumptive <i>Bacillus cereus</i> -- Most probable number technique and detection method (ISO 21871:2006; EN ISO 21871:2006)

MIKROBIOLOŠKI PARAMETAR	NAZIV NORME
Vibrio spp	HRS ISO/TS 21872-1:2008
	Mikrobiologija hrane i hrane za životinje -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti moguće enteropatogenih Vibrio spp. -- 1. dio: Dokazivanje prisutnosti Vibrio parahaemolyticus i Vibrio cholerae (ISO/TS 21872-1:2007)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of potentially enteropathogenic Vibrio spp. -- Part 1: Detection of Vibrio parahaemolyticus and Vibrio cholerae (ISO/ TS 21872-1:2007)
Vibrio spp	HRS ISO/TS 21872-2:2008
	Mikrobiologija hrane i hrane za životinje -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti moguće enteropatogenih Vibrio spp. -- 2. dio: Dokazivanje prisutnosti svih drugih vrsta osim Vibrio parahaemolyticus i Vibrio cholerae (ISO/TS 21872-2:2007)
	Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of potentially enteropathogenic Vibrio spp. -- Part 2: Detection of species other than Vibrio parahaemolyticus and Vibrio cholerae (ISO/TS 21872-2:2007)

Napomena:

Popis normi preuzet je sa službene stranice Hrvatskog zavoda za norme (<http://www.hzn.hr/>).

Norme su podložne stalnim promjenama i dopunama tako da je potrebno kontinuirano praćenje aktualnog stanja na stanici Hrvatskog zavoda za norme.

Literatura:

Anon: Bad Bug Book - Foodborne Pathogenic Microorganisms and natural Toxins Handbook. U.S. Food and Drug Administration. <http://www.cfsan.fda.gov/>

Anon: Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Služba za epidemiologiju zaraznih bolesti. Godišnji izvještaj za 2006. i 2007. godinu i prvih 6 mjeseci 2008. godine.

Anon: Seafood Network Information Center. <http://seafood.ucdavis.edu/>

Begovac, J., D. Božinović, M. Lisić, B. Baršić, S. Schönwald (2006): Infektologija. 1. izdanje. Profil, Zagreb.

Brooks, G. F., K. C. Carroll, J. S. Butel, S. A. Morse (2007): Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. 24th Edition. The McGraw-Hill Companies, Inc. USA.

Hunter, C. J., M. Petrosyan, H. R. Ford, N. V. Prasadrao (2008): *Enterobacter sakazakii*: An Emerging Pathogen in Infants and Neonates. *Surg. Infect.* 9 (5) 533-539.

Naglić, T., D. Hajsig, J. Madić, Lj. Pinter (2005): Veterinarska mikrobiologija. Specijalna bakteriologija i mikologija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu i Hrvatsko mikrobiološko društvo.

Padovan, I. (gl. urednik) (2006): Enciklopedijski rječnik humanog i veterinarskog medicinskog nazivlja. Hrvatska akademija medicinskih znanosti i Leksikografski zavod Miroslav Krleža, Zagreb.

Winn, W. Jr., S. Allen, W. Janda, E. Koneman, G. Procop, P. Schreckenberger, G. Woods (2006): Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th Edition Lippincot Williams & Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo

2. dio virusi

Doc. dr. sc. Ljubo Barbić
Veterinarski fakultet Zagreb



Uvod

Za razliku od drugih mikroorganizama virusi se umnažaju isključivo u živim stanicama s tim da svaka vrsta virusa ispoljava specifičan afinitet prema domaćinu i tropizam prema određenoj vrsti stanica. Bolest uzrokuju u vrlo malim infektivnim dozama, a s druge strane izlučuju se na različite načine u velikoj količini iz oboljelog organizma. Kako virusi određeno vrijeme nakon izlučivanja zadržavaju infektivnost u vanjskoj sredini tako izvor infekcije osim oboljele osobe postaju i svi kontaminirani predmeti i prostori u njenoj okolini preko kojih se bolest može širiti. Upravo navedena svojstva virusa omogućavaju im lako širenje i izazivanje epidemija velikih razmjera.

Mnoge vrste virusa mogu se prenositi kontaminiranom hranom i uzrokovati epidemije gastroenteritisa ili hepatitisa u ljudi, kao i druge kliničke oblike bolesti. Tako epidemije gastroenteritisa uzrokuju virusi iz rodova *Norovirus*, *Rotavirus*, *Sapovirus*, *Adenovirus*, *Astrovirus*, *Coronavirus* i *Aichivirus*, dok epidemije hepatitisa uzrokuju *Hepatitis A virus* i *Hepatitis E virus*. Virusi pripadnici roda *Enterovirus* mogu također biti preneseni kontaminiranom hranom i izazvati različite kliničke oblike bolesti od asimptomatske infekcije do fatalnog aseptičnog meningitisa. Podaci o praćenju pojave epidemija bolesti ukazuju da su virusi sve učestaliji uzročnici epidemija nastalih kao posljedica konzumacije kontaminirane hrane. Uz svojstva virusa koja im omogućavaju lako širenje u populaciji, razlog tome je i promjena načina života koja nužno dovodi i do promjene prehrambenih navika, a očituje se u zajedničkom hranjenju velikog broja ljudi na istim mjestima, kao i globalizaciji tržišta hrane.

S obzirom na namjenu priručnika *Biološke opasnosti u hrani* kao pomoć u radu svim direktno ili indirektno zaposlenim u prehrambenoj industriji te pružanje informacije javnosti o bolestima koje se prenose hranom, u ovom poglavlju predstavljene su osnovnim podacima samo četiri najučestalije i najznačajnije virusne bolesti koje se mogu prenositi konzu-

macijom kontaminirane hrane, dok se za sve detaljnije informacije može poslužiti navedenom literaturom. Spoznaje o uzročnicima i pojedinim virusnim zaraznim bolestima osnovno su sredstvo za uspostavu mjera kontrole, sprječavanja i suzbijanja epidemija virusnih zaraznih bolesti.

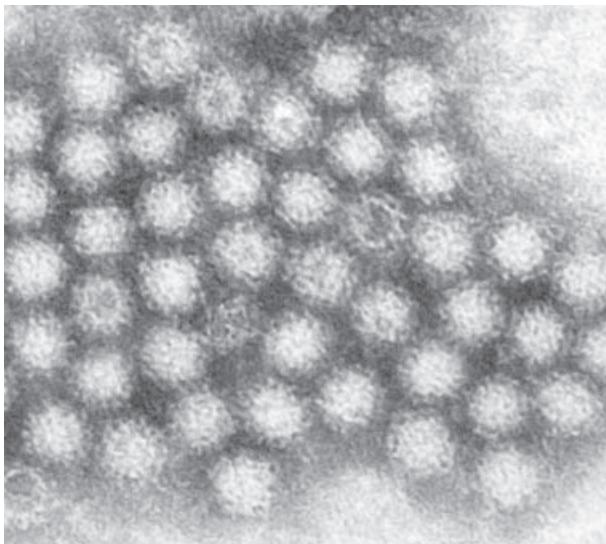
Autor

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 ovojnica, 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 ustanovaljeno da postoji 5 genomske skupine norovirusa (GI, GII, GIII, GIV i GV) koje se dijele u najmanje 20 genetičkih skupina.



| **Slika 1. Elektronska mikrografija 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 pokušne infekcije. Izlučivanje uzročnika u najvišem titru je 25 do 72 sata nakon infekcije, a ukupno traje do 2 tjedna. Kod asimptomatskih kličonoša 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 boravkom u prostorima u njenoj 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. Najkratča 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 infiltraciju 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 intenzivnjim medicinskim tretmanom i hospitalizacijom, najčešće kod starijih osoba s prethodnim zdravstvenim poteškoćama. U prirodnim, kao i pokušnim 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 uzrokovan 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 serumima, 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 uzrokovan je infekcijom norovirusom, dok je u SAD-u ustavljeno da je preko 50% epidemija gastroenteritisa nastalih konzumiranjem kontaminirane hrane uzrokovan norovirusom. Od nebakterijskih akutnih gastroenteritisa nastalih konzumiranjem kontaminirane hrane 96% je uzrokovan 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 razočnost specifičnih protutijela, pa se pretpostavlja da postoji genetski uvjetovana sklonost infekciji.

Rizična hrana

Najrizičnije namirnice su školjke koje se užgajaju u vodi s fekalnim onečišćenjem, a konzumiraju se sirove ili kuhanе 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, sendvići, voće). Kako je prijenos bolesti primarno fekalno-oralni i toplinski obrađene namirnice koje su pripremale ili posluživale osobe koje izljučuju 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 radioimuno-loškom 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 usmjereni 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.

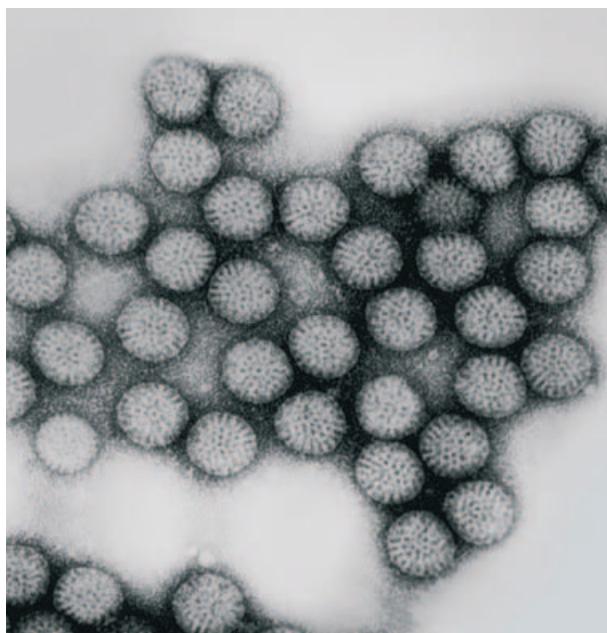
Rotavirusna infekcija

Opis uzročnika

Rotavirusi pripadaju porodici *Reoviridae*, rod *Rotavirus*, a uzrokuju akutne gastroenteritise. Virusi sadrže dvolančanu RNA podijeljenu u 11 segmenata, okruženu dvoslojnom proteinском kapsidом. 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 mikrografija 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.

Način širenja i klinička slika bolesti

Karakteristično širenje rotavirusne infekcije vezano je uz fekalno-oralni prijenos. Infektivna doza virusa je vrlo mala te je dokazano da je 10^2 virusnih čestica dovoljno da izazove bolest. Istraživanja su pokazala da osobe s rotavirusnom infekcijom u 1 ml stolice izlučuju $10^2\text{-}10^3$ virusnih čestica, tako da oboljele osobe predstavljaju najvažniji izvor infekcije.

Najčešći način širenja bolesti je izravnim dodirom s oboljeлом osobom koja kontaminiranim rukama širi bolest. Bolest se može širiti i kontaminiranim predmetima te preko kontaminirane hrane. S obzirom na otpornost virusa moguće je i širenje bolesti kontaminiranom vodom.

Rotavirusne infekcije predstavljaju veliki problem i kao bolestičke infekcije na dojenačkim odjelima zbog rezistencije virusa na uobičajene dezinficijense i malu infektivnu dozu.

Inkubacija bolesti traje 1-7 dana, a tipičan klinički oblik započinje povraćanjem, nakon kojeg uslijedi vodenasti proljev koji traje 4-8 dana. Temperatura bude blago povišena, a ponekad se javlja netolerancija na laktuzu.

U nekim slučajevima zabilježeni su i klinički znakovi od strane dišnog sustava s izraženim kašljanjem i sekrecijom iz nosa.

Rotavirusni gastroenteritis se klinički javlja s različitim stupnjem izraženosti simptoma. Tako klinički oblik bolesti varira od asimptomatskog, samolimitirajućeg, do teškog kliničkog oblika. Oboljeli se u pravilu u potpunosti oporave od bolesti. U slučaju jakih dugotrajnih proljeva bez nadoknade tekućine i elektrolita zabilježeni su smrtni slučajevi uzrokovani infekcijom rotavirusom. Tako rotavirusni proljev predstavlja jedan od najčešćih uzroka smrti u dječjoj dobi u zemljama u razvoju uslijed nedostatne medicinske skrbi. Prema podacima WHO oko 530000 djece u dobi do 5 godina godišnje umire od rotavirusnih proljeva s najvećom učestalošću smrt-

nih slučajeva zabilježenom u djece u dobi od 6 mjeseci do 2 godine.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Dijagnostika bolesti se osniva na dokazu uzročnika u stolici oboljelih ljudi. Imunoenzimski test (ELISA) je najprimjenjivaljnija metoda dijagnostike rotavirusne infekcije, a za dijagnostiku bolesti uzrokovane rotavirusom serološke skupine A na tržištu se nalazi i nekoliko dijagnostičkih komercijalnih kitova. Uz imunoenzimski test, kao dodatna ili alternativna metoda, koristi se i metoda elektronske mikroskopije te elektroforeza u poliakrilamidnom gelu. Metoda lančane reakcije polimerazom uz prethodnu reverznu transkripciju (RT-PCR) primjenjuje se za otkrivanje i identifikaciju sve tri serološke skupine rotavirusa koje uzrokuju bolest u ljudi.

Učestalost bolesti

Učestalost bolesti bitno se razlikuje ovisno o serološkoj skupini virusa. Infekcije rotavirusima serološke skupine A javljaju se endemijski po cijelom svijetu i predstavljaju najčešći uzrok proljeva u djece. Od rotavirusnih proljeva najčešće obolijevaju djeca u dobi od 6 mjeseci do 2 godine, jer je ustanovljeno da preko 90% djece iznad 3. godine ima specifična protutijela koja osiguravaju dugotrajan (doživotan) imunitet.

Uzrok hospitalizacije djece s kliničkim simptomima proljeva u gotovo 50% slučajeva je infekcija rotavirusom serološke skupine A. U SAD-u godišnje se zabilježi 3 milijuna slučajeva rotavirusnog gastroenteritisa. Bolest karakterizira visok pobol te nizak pomor, tako da se u SAD-u godišnje u 3 milijuna slučajeva rotavirusne infekcije zabilježi oko 100 smrtnih slučajeva.

Za bolest je karakteristično sezonsko pojavljivanje u umjernom klimatskom pojusu gdje se bolest primarno javlja u zimskim mjesecima, dok se u tropskom pojusu javlja s jednakom učestalošću tijekom cijele godine.

Infekcije rotavirusima serološke skupine B, koja se još naziva rotavirusni proljev odraslih, izazvale su opsežne epidemije s izraženim jakim kliničkim znakovima u ljudi svih dobnih skupina u Kini.

Infekcije rotavirusima serološke skupine C uzrokuju sporadične kliničke slučajevne proljeva u djece u mnogim državama, dok su epidemije uzrokovane rotavirusima serološke skupine C iznimne.

U Republici Hrvatskoj su 2006. godine prijavljene 2 epidemije rotavirusnog gastroenteritisa tijekom kojih je oboljelo 15 osoba.

Rizična populacija

Sve dobne skupine su prijemuljive za infekciju rotavirusom, s tim da stupanj izraženosti kliničkih znakova varira ovisno o doboj skupini i općoj otpornosti pacijenta. Najizraženiji klinički znakovi zabilježeni su u djece u dobi od 6 mjeseci do 2 godine, zatim populaciji školske djece, osoba starije životne dobi, te imunološki kompromitiranih pacijenata.

Epidemije bolesti obično se javljaju vezane uz mjesta gdje se većem broju ljudi poslužuje gotova hrana, a najčešće su zabilježene u bolnicama, školskim restoranima, staračkim domovima i restoranima.

Rizična hrana

S obzirom na način širenja bolesti i svojstva virusa sve vrste namirnica koje ne zahtijevaju dodatnu toplinsku obradu prije konzumacije, a u procesu pripreme i posluživanja sudjeluju osobe koje izlučuju rotavirus, rizične su za širenje bolesti. Najčešće zabilježeno širenje bolesti vezano je uz kontaminirano voće, salate i hladne nareske.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Za dokaz virusa u hrani moguće je primijeniti metode koje se koriste za dokaz uzročnika u vodi ili kliničkim uzorcima (ELI-

SA, RT-PCR), ali ne postoji metoda dokaza uzročnika primjenjiva u rutinskoj kontroli higijenske ispravnosti namirnica.

Smanjenje rizika

S obzirom na način širenja bolesti, profilaksa u svrhu smanjivanja rizika od pojavljivanja epidemija bolesti primarno je usmjerena na sprječavanje kontaminacije hrane i vode.

Za smanjenje rizika kontaminacije hrane najvažnija je higijena osoba koje sudjeluju u pripremi hrane, kao i zabrana obojeljim osobama da sudjeluju u pripremi i posluživanju hrane. Na taj se način smanjuje i rizik od kontaminacije predmeta kojima se može širiti bolest.

U SAD-u je načinjeno cjepivo za peroralnu primjenu koje sadržava živi virus, a namijenjeno je za imunizaciju djece. Obzirom na dobre rezultate kliničkog istraživanja specifična imunoprofilaksa ugrožene populacije predstavlja učinkovitu metodu smanjenja rizika od nastanka i širenja bolesti.

Hepatitis A

Opis uzročnika

Hepatitis A virus (HAV) pripada porodici *Picornaviridae*, rod *Hepatovirus*, a uzročnik je hepatitisa A. Veličina virusne čestice je 27-32 nm, bez ovojnica, s izraženom ikozaedralnom simetrijom. Virus se sastoji od jednolančanog linearног RNA genoma veličine 7,5 kb. Gustoća virusa u gradijentu CsCl iznosi 1,32-1,34 g/ml.

HAV se dijeli u sedam genomskih skupina, a za javno zdravstvo je najvažnija genomska skupina I i genomska skupina II. Antigenска svojstva virusa su stalna, s dominantnim epitopima na površinskim virusnim proteinima VP1 i VP3. Istraživanje sojeva virusa izdvojenih iz ljudi neutralizacijskim testom pokazalo je da svi sojevi HAV-a pripadaju jednom serološkom tipu.



Slika 3. Elektronska mikrografija hepatitis A virusa (HAV)*

*Izvor: Centers for Disease Control and Prevention's Public Health Image Library (PHIL), identifikacijski broj #2739.

Drugi nazivi bolesti

Bolest se danas opisuje pod nazivima hepatitis A ili virusni hepatitis A, dok su se ranije koristili nazivi zarazni hepatitis, epidemijski hepatitis, epidemijska žutica, kataralna žutica, Botkinsova bolest i MS-1 hepatitis.

Način širenja i klinička slika bolesti

Bolest se primarno širi izravnim dodirom s oboljelim osobama uslijed fekalne kontaminacije. Epidemije često nastaju i širenjem bolesti kontaminiranom hranom i vodom. Širenju bolesti pogoduju loši higijenski uvjeti, poglavito u objektima gdje živi veći broj ljudi, pa su epidemije najčešće zabilježene u ustanovama poput vojarni, zatvora i slično.

Prema podacima za RH epidemije hepatitis A zabilježene su u obiteljima, školama, dječjim domovima, dječjim sportskim klubovima i slično.

Inkubacija bolesti iznosi 10 do 50 dana s prosječnim trajanjem od 30 dana. Duljina inkubacije je obrnuto proporcionalna količini virusa unesenog u organizam. Minimalna infektivna doza virusa je 10^2 virusnih čestica. Nakon ulaska virusa kroz usta, HAV se umnaža u epitelnim stanicama tankog crijeva i stanicama jetre. Glavno mjesto umnažanja virusa su stanice jetre, a virus se izlučuje preko žući te je nazočan u stolici u velikoj količini. Izlučivanje virusa započinje još u inkubaciji, što predstavlja značajan problem u suzbijanju bolesti.

Infekcija HAV-om često prolazi subklinički, a u klinički manifestnom obliku javlja se naglim nastupom povišene temperature, mučnine, opće slabosti, gubitka teka i abdominalne boli. Nakon nekoliko dana dolazi do klinički manifestne žutice. Ponekad se u početku bolesti javlja proljev različitog stupnja. Bolest je obično blagog oblika i potpuni oporavak uslijedi nakon 1-2 tjedna. Sporadično su zabilježeni slučajevi s izraženijim kliničkim znakovima i oporavkom koji je trajao po nekoliko mjeseci. Letalitet je iznimno i zabilježen je u manje od 0,4% slučajeva.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Dijagnostika virusnog hepatitisa A osniva se na dokazu specifičnih protutijela IgM razreda u serumu bolesnika uzetom tijekom akutne faze bolesti ili u početku rekonvalescencije. Na tržištu se nalaze i dijagnostički komercijalni kitovi. Uzročnik se može dokazati elektronskim mikroskopom i RT-PCR metodom u stolici.

Učestalost bolesti

Virusni hepatitis A javlja se u cijelom svijetu u obliku epidemija ili sporadičnih slučajeva. Prema podacima za SAD incidencija virusnog hepatitisa A je oko 15 oboljelih na 100000

stanovnika. Od svih bolesnika s dijagnosticiranim hepatitism u 38% slučajeva bolest je uzrokovana hepatitis A virusom.

Obzirom da se bolest često javlja u subkliničkom obliku velika je razlika u broju zabilježenih klinički manifestnih slučajeva i ukupnom broju inficiranih osoba u populaciji. Kako preboljenje bolesti izaziva doživotan imunitet, seroepidemiološkim istraživanjem utvrđena su specifična protutijela za HAV u 65% osoba starijih od 50 godina.

U zemljama u razvoju zbog izloženosti infekciji u djetinjstvu znatno je manja incidencija bolesti u starijoj dobi u odnosu na razvijene zemlje.

Prema podacima o učestalosti bolesti u RH broj zabilježenih slučajeva bolesti se znatno smanjuje u posljednjih 15 godina s karakterističnim povremenim porastom (epidemijske godine). Posljednjih godina u prosjeku je zabilježeno oko 50 slučajeva godišnje, dok je 2006. godine prijavljena samo jedna epidemija s ukupno 4 oboljele osobe.

Rizična populacija

Sve dobne skupine su prijemljive za infekciju hepatitis A virusom. Prema učestalosti bolest je znatno češća u odraslim nego u djece.

S obzirom da preboljenje bolesti izaziva doživotni imunitet bolest je najčešća u mlađoj populaciji odraslih osoba.

Prema podacima za RH najveći broj epidemija zabilježen je među stanovništvom prigradskih naselja zbog loše sanitacije.

Rizična hrana

Zbog mogućnosti fekalne kontaminacije, sve vrste hrane koje ne zahtijevaju toplinsku obradu prije konzumacije predstavljaju mogući izvor infekcije. Često su opisivane i epidemije u kojima je izvor infekcije bila fekalno onečišćena voda.

Prema epidemiološkim podacima kontaminirana voda, školjke i salate su najčešći izvor infekcije, a zabilježene su i epidemije izazvane konzumiranjem kontaminiranih hladnih narezaka, sendviča, voća i voćnih sokova, mlijeka i mliječnih proizvoda, povrća, te hladnih napitaka.

Dokazivanje uzročnika u hrani

HAV nije uspješno izdvojen iz hrane, a dodatni problem u analitici hrane je duljina inkubacije od nekoliko tjedana pa uzorci najčešće nisu dostupni za analizu. Za rutinsku kontrolu higijenske ispravnosti hrane nije primjenjiva niti jedna metoda. Molekularnom metodom RT-PCR moguće je dokazati uzročnika u kliničkim uzorcima i vodi. S obzirom na osjetljivost RT-PCR metode postoji mogućnost primjene i za dokaz uzročnika u uzorcima hrane.

Smanjenje rizika

Zbog duljine inkubacije bolesti, te mogućnosti izlučivanja uzročnika do 2 tjedna prije nastupa kliničkih znakova, kao i 4 tjedna od početka kliničkih znakova, te brojnih subkliničkih infekcija tijekom kojih također dolazi do izlučivanja virusa, znatno je otežano suzbijanje i iskorjenjivanje virusnog hepatitisa A.

Obzirom na način širenja primarno je smanjivanje mogućnosti kontaminacije hrane i vode higijenskim uvjetima pripreme hrane, te kontrolom zdravstvenog stanja djelatnika.

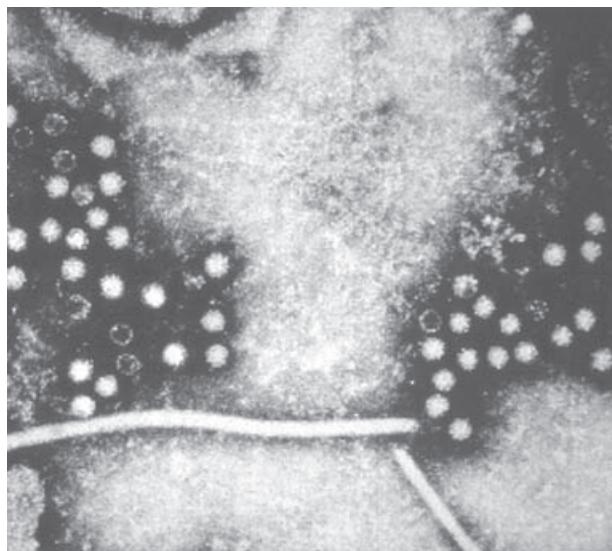
Na tržištu su registrirana cjepiva protiv hepatitisa A koja sadržavaju inaktivirani virus adsorbiran na aluminij hidroksid. Cijepljenje u svrhu smanjivanja rizika od oboljenja i širenja bolesti preporučljivo je svim osobama koje putuju u države s visokom incidencijom bolesti. Cjepiva su u uporabi posljednjih 5-7 godina pa nema objektivnih rezultata o trajanju imunitosti. Na osnovu kinetike smanjenja titra specifičnih protutijela prepostavlja se da zaštita traje najmanje 20 godina.

Hepatitis E

Opis uzročnika

Hepatitis E virus pripada u samostalni rod *Hepevirus*, a uzrokuje virusni hepatitis E. Rodu *Hepevirus* pripadaju četiri soja virusa: HEV 1, HEV 2, HEV 3 i HEV 4. Veličina virusne čestice iznosi 32-34 nm, nema ovojnicu i morfološki je izražena ikozaedralna simetrija. Virus ima jednolančani RNA genom veličine 7,2 kb s 3'-poli(A) krajem. Genom je organiziran u tri ORF regije koje kodiraju nestrukturni protein (ORF 1), glavni kapsidni protein (ORF 2) i mali imunoreaktivni protein nepoznate uloge (ORF 3).

Svi izdvojeni sojevi HEV-a pripadaju istoj serološkoj skupini s izraženom unakrižnom reakcijom specifičnih protutijela.



Slika 4. Elektronska mikrografija hepatitis E virusa (HEV)*

*Izvor: Centers for Disease Control and Prevention's Public Health Image Library (PHIL), identifikacijski broj #5605.

Drugi nazivi bolesti

Bolest izazvana hepatitis E virusom naziva se hepatitis E ili crijevno prenošen non-A non-B hepatitis (ET-NANBH). Bolest je opisivana i pod drugim nazivima kao što su fekalno-oralni non-A non-B hepatitis i A-sličan non-A non-B hepatitis.

Način širenja i klinička slika bolesti

HEV se širi fekalno-oralnim putem, a zabilježene epidemije nastale su širenjem kontaminiranom vodom i direktnim kontaktom s oboljelim osobama. U razvijene zemlje bolest uglavnom sporadično unose putnici iz tropskih i suptropskih područja. Zbog svojstava virusa i načina širenja kontaminirana hrana predstavlja potencijalnu opasnost u širenju bolesti. Minimalna infektivna doza virusa nije ustanovljena.

Inkubacija bolesti varira od 2 do 9 tjedana. Infekcija HEV-om može proći u subkliničkom obliku, u klinički manifestnim slučajevima karakteristični su klinički simptomi opće slabosti, gubitka teka, abdominalne boli i povišenje tjelesne temperature. Bolest se najčešće javlja u blagom obliku, a oboljele osobe se u potpunosti oporavljaju nakon 2 tjedna. Letalitet je iznimno (0,1-1%) s izuzetkom trudnica kod kojih je zabilježen letalitet i do 30%.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Dijagnostika bolesti osniva se na epidemiološkim podacima, kliničkoj slici i serološkim pretragama. Objektivna dijagnostika bolesti može se načiniti imuno-elektronском mikroskopijom i dokazom uzročnika u stolici pacijenata u akutnoj fazi bolesti.

Dokaz virusnog genoma RT-PCR metodom u stolici oboljelih tijekom akutne faze bolesti moguća je dijagnostička metoda, ali nije u rutinskoj primjeni.

Učestalost bolesti

Endemiska pojava bolesti je karakteristična za države jugoistočne Azije, države nastale raspadom SSSR-a, Indiju, zemlje Srednjeg istoka, Afrike i Središnje Amerike, dok se u ostalim državama klinički manifestan virusni hepatitis E pojavljuje u epidemijском i sporadičnom obliku, najčešće vezan uz kontaminiranu vodu za piće. Istraživanja prevalencije specifičnih protutijela nije u skladu s incidencijom kliničkih oblika pa se pretpostavlja da je HEV raširen po cijelom svijetu u apatognom obliku.

Podaci o učestalosti bolesti u RH nisu poznati.

Rizična populacija

Bolest je najučestalija u odraslih osoba mlađe ili srednje životne dobi (15-40 godina). Zbog teških kliničkih oblika i visokog mortaliteta trudnice predstavljaju najrizičniju skupinu u populaciji. Rizičnu populaciju predstavljaju i osobe koje putuju u tropska i suptropska područja te ostale države gdje se bolest endemijski pojavljuje.

Rizična hrana

Prema epidemiološkim podacima širenje bolesti je potvrđeno kontaminiranim vodom za piće te izravnim dodirom s obolje-

lim osobama, ali zbog fekalno-oralnog načina širenja bolesti postoji opasnost od širenja bolesti kontaminiranim hranom koja prije konzumiranja ne zahtijeva toplinsku obradu.

Dokazivanje uzročnika u hrani

HEV nije izdvojen iz hrane niti postoji primjenjiva dijagnostička metoda u rutinskoj kontroli higijenske ispravnosti namirnica.

Dokaz virusnog genoma u hrani moguć je pomoću RT-PCR metode, ali se ne primjenjuje u praksi.

Smanjenje rizika

Za smanjenje rizika, u skladu s načinima širenja bolesti, primarno je onemogućavanje kontaminacije vode, poštovanje higijenskih uvjeta u pripremi hrane i kontrola zdravstvenog stanja djelatnika.

Rekombinantno cjepivo za hepatitis E koje sadržava pročišćeni virusni polipeptid dobiven pomoću rekombinantnog bakulovirusa uz adjuvans aluminijevih soli, pokazalo se učinkovitim u kliničkim istraživanjima pa cijepljenje rizične populacije predstavlja buduću učinkovitu metodu u smanjenju rizika od širenja bolesti.

Tablica 5. Prikaz najznačajnijih virusnih zaraznih bolesti koje se mogu prenositi namirnicama

Naziv bolesti / uzročnika	Infekcijska doza	Inkubacija bolesti	Trajanje bolesti	Klinički znakovi	Rizična hrana	Rizična populacija
Norovirusna infekcija <i>Norovirus</i>	10 – 100 virusnih čestica	24h – 48h	12h – 60h	povraćanje, proljev	školjke, voda, sve namirnice koje se toplinski ne obrađuju, smrznuto voće i povrće, sve vrste namirnica kontaminirane tijekom pripreme i posluživanja	sve dobne skupine
Rotavirusna infekcija <i>Roatvirus</i>	10^2 virusnih čestica	24h – 72h (maksimalno 7 dana)	do 8 dana	povišena tjelesna temperatura, opća slabost, glavobolja, te tipično povraćanje u početku bolesti, a kasnije proljev	sve namirnice i voda kontaminirani tijekom pripreme i posluživanja	sve dobne skupine, najugroženija djeca u dobi 6 mjeseci do 2 godine
Virusni hepatitis A <i>Hepatitis A virus</i>	10^2 virusnih čestica	10 – 50 dana	1 – 2 tjedna	povišena tjelesna temperatura, mučnina, abdominalna bol, žutica	školjke, hrana koja ne zahtjeva termičku obradu, voda, sve vrste namirnica kontaminirane tijekom pripreme i posluživanja	sve dobne skupine, bolest najučestalija u mladih odraslih osoba
Virusni hepatitis E <i>Hepatitis E virus</i>	nepoznata	2 – 9 tjedana	do 2 tjedna	povišena tjelesna temperatura, opća slabost, anoreksija, abdominalna bol	kontaminirana voda i hrana koja prije konzumiranja ne zahtjeva toplinsku obradu	trudnice, odrasle osobe mlađe i srednje životne dobi, putnici u države u kojima se bolest endemijski pojavljuje

Literatura:

Baert, L.; M. Uyttendaele; J. Debevere (2007): Foodborne Viruses: An Emerging Risk to Health. In: Food Safety a practical and case study approach (Eds. Anna McElhatton and Richard J. Marshall). Springer US, pp.202-221.

Bradley D.W. (1992): Hepatitis E: epidemiology, aetiology and molecular biology. Review of Medical Virology 2, 19-28.

Butot, S.; T. Putallaz; G. Sanchez (2007): Procedure for rapid concentration and detection of enteric viruses from berries and vegetables. Applied and Environmental Microbiology 73, 186-192.

Buzby, J.C.; T. Roberts (1997): Economic costs and trade impacts of microbial food borne illness. World Health Statistics Quarterly 50 (1-2), 57-66.

Calderon-Margalit, R.S.; R.T. Halperin; N. Orr et al. (2005): A largescale gastroenteritis outbreak associated with Norovirus in nursing homes. Epidemiology and Infection 133, 35-40.

Carter, M.J. (2005): Enterically infecting viruses: pathogenicity, transmission and significance for food and waterborne infection. Journal of Applied Microbiology 98, 1354-1380.

Chan, M.C.; J.J. Sung; R.K. Lam et al. (2006): Fecal viral load and norovirus-associated gastroenteritis. Emerging Infectious Diseases 12, 1278-1280.

Cianciara J. (2000): Hepatitis A shifting epidemiology in Poland and Eastern Europe. Vaccine 18, 68-70.

Cliver, D.O. (1995): Detection and control of foodborne viruses. Trends in Food Science & Technology 6, 353-358.

Cliver D.O.; S.M., Matsiu; Casteel M. (2006): Infections with viruses and prions. In: Foodborne infections, intoxications (Eds. Riemann H.P. and D.O. Cliver). Elsevier, Amsterdam, pp. 367-448.

- D'Souza, D. H.; A. Sair; K. Williams, K. et al. (2006). Persistence of caliciviruses on environmental surfaces and their transfer to food. *International Journal of Food Microbiology*, 108, 84–92.
- De Bruin, E.; E. Duizer; H. Vennema; M.P. Koopmans (2006): Diagnosis of Norovirus outbreaks by commercial ELISA or RT-PCR. *Journal of Virological Methods* 137, 259–264.
- Fischer T.K.; C. Viboud; U. Parashar et al. (2007): Hospitalizations and deaths from diarrhea and rotavirus among children <5 years of age in the United States, 1993–2003. *Journal of Infectious Diseases* 195, 1117–1125.
- Glass R.I.; U.D. Parashar; J.S. Bresee et al. (2006): Rotavirus vaccines: current prospects and future challenges. *Lancet* 368, 323–32.
- Hardy, M.E. (2005): Norovirus protein structure and function. *FEMS Microbiology Letters* 253, 1–8.
- Harrison T.J. (1999): Hepatitis E virus - an update. *Liver*, 19, 171–176.
- Hedberg C.W.; M.T. Osterholm (1993): Outbreaks of foodborne and waterborne viral gastroenteritis. *Clinical Microbiology Reviews* 6:199–210.
- Hussaini, S.H.; S.J. Skidmore; P. Richardson et al.(1997): Severe hepatitis E infection during pregnancy. *Journal of Viral Hepatitis* 4, 51–54.
- Hutson, A.M.; R.L. Atmar; M.K. Estes (2004): Norovirus disease: changing epidemiology and host susceptibility factors. *Trends in Microbiology* 12, 279–287.
- Koff R.S. (1998): Hepatitis A. *Lancet* 341, 1643–1649.
- Koopmans, M., C.H. Von Bonsdorff; J. Vinje et al. (2002): Foodborne viruses. *FEMS Microbiology Reviews* 26, 187–205.
- Koopmans, M.; E. Duizer (2004). Foodborne viruses: an emerging problem. *International Journal of Food Microbiology* 90, 23–41.
- Lemon S.M. (1997): Type A viral hepatitis: epidemiology, diagnosis, and prevention. *Clinical Chemistry* 43, 1494–1499.
- Lopman, B. A.; D. W. Brown; M. Koopmans (2002): Human caliciviruses in Europe. *Journal of Clinical Virology* 24, 137–160.
- Lopman B.A.; M.H. Reacher; D.Y. Van et al. (2003): Viral gastroenteritis outbreaks in Europe, 1995–2000. *Emerging Infectious Diseases* 9, 90–96.
- Lynch, M.; J. Painter; R. Woodruff; C. Braden (2006): Surveillance for foodborne-disease outbreaks – United States, 1998–2002. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 55, 1–34.
- Meng, X.J. (2005): Hepatitis E virus: cross-species infection and zoonotic risk. *Clinical Microbiology Newsletter* 27, 43–48
- Rzezutka, A.; N. Cook (2004): Survival of human enteric viruses in the environment and food. *FEMS Microbiology Reviews* 28, 441–453.
- Safary A. (2001): Perspectives of vaccination against hepatitis E. *Intervirology* 44:162–166.
- Shapiro C.N.; H.S. Margolis(1993): Worldwide epidemiology of hepatitis A virus infection. *Journal of Hepatology* 18, 11–14.
- Vasickova, P.; L. Dvorska; A. Lorencova; I. Pavlik (2005): Viruses as a cause of foodborne diseases: a review of the literature. *Veterinarski Medicina* 50, 89–104.
- Vicković, N.; A. Beus (2005): Virusni gastroenteritisi. *Infekto-loški glasnik* 25, 23–28.
- Wasley A.; T. Samandari; B.P. Bell (2005): Incidence of hepatitis A in the United States in the era of vaccination. *Journal Of the American Medical Association* 294, 194–201.

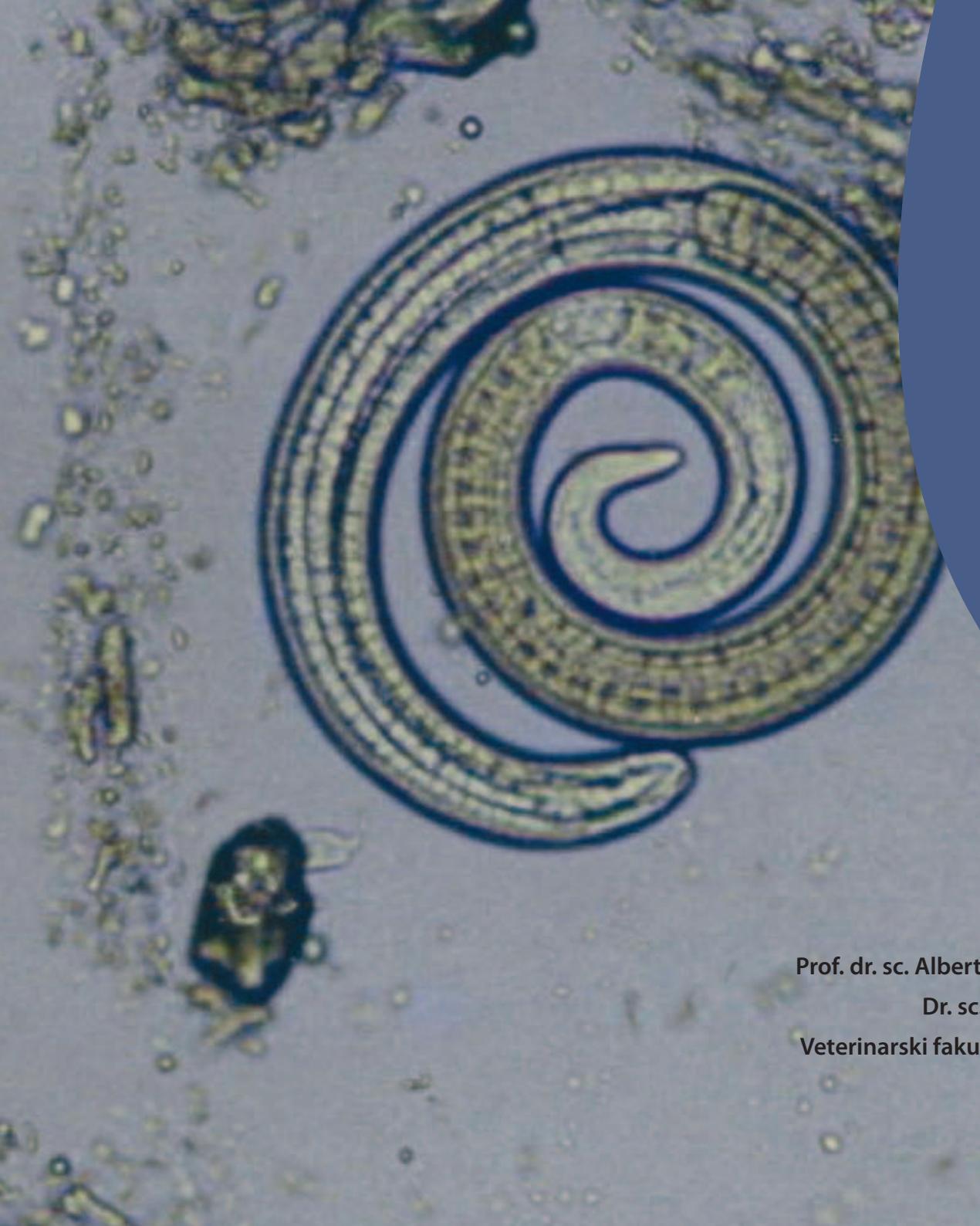
Widdowson, M.A.; A. Sulka; S.N. Bulens et al. (2005): Norovirus and foodborne disease, United States, 1991–2000. *Emerging Infectious Diseases* 11, 95–102.

Wu H.M.; M. Fornek; K.J. Schwab et al.(2005): A norovirus outbreak at a long-term-care facility: the role of environmental surface contamination. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 26, 802–810.

Zheng, D. P.; T. Ando; R. L. Fankhauser et al. (2006): Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virology* 346, 312-323.

3. dio Paraziti

Prof. dr. sc. Albert Marinculić
Dr. sc. Relja Beck
Veterinarski fakultet Zagreb





Uvod

Globalizacija prometa hranom s kojom se svakim danom srećemo traži nove standarde kontrole sigurnosti hrane koja svakako obuhvaća i opasnosti uzrokovane parazitima. Visoki standard života omogućava stanovnicima razvijenih zemalja konzumaciju brojnih delikatesa koje ni u kojem slučaju nisu bezazlene ukoliko nisu poštivana stroga pravila kontrole sigurnosti. To su sve razlozi zbog kojih parazite ne smijemo ni najmanje zanemariti, pogotovo nakon svjedočenja stotina tisuća oboljelih od kriptosporidioze ili pak tisuća i tisuća počačaja uzrokovanih svakim danom sve više prisutnjim tokso-plazmama. Kako su kontrole parazita u namirnicama teško izvedive, vrlo je važno poznavati opasnost kao i načine njihova sprječavanja čemu je i posvećeno ovo poglavlje.

Autori



Protozoi koji se prenose hranom

Entamoeba histolytica

Opis uzročnika

Entamoeba histolytica je jednostanični protozoon koji invadiра pretežito ljude i primate. Iako se i drugi sisavci poput pasa i mačaka mogu invadirati, nikada ne izlučuju ciste u izmetu pa ni ne sudjeluju u prijenosu. Vegetativni stadij (trofozoiti) nalazi se u crijevu i samo u svježoj stolici. U stolici se nalaze i ciste protozoona koje predstavljaju jedini invazijski stadij. Ciste preživljavaju u vodi i tlu i odgovorne su za kontaminaciju hrane. U crijevu se iz ciste oslobađaju trofozoiti.

Naziv bolesti

E. histolytica uzrokuje bolest koju nazivamo amebna dizenterija ili amebijaza.

Invazijska doza i klinička slika bolesti

Smatra se da invazija može nastupiti sa samo jednom cistom. *E. histolytica* je vrlo agresivni nametnik jer enzimima razgrađuje tkivo te luči toksične tvari. Vrlo često invazija prolazi neprijećeno, ali postoje i slučajevi kada bolest prati vrlo izražena klinička slika. Bolest se može očitovati u dva oblika i to kao amebna dizenterija te kronična amebijaza. Amebna dizenterija je oblik kojeg odlikuju snažni proljevi s primjesama krvi i sluzi u stolici. Bolest nastupa nakon inkubacije od jednog do četiri tjedna. Kronični oblik bolesti odlikuju povremeni proljevi. Komplikacije bolesti mogu biti i ulcerozni kolitis te začep. Oštećenja uzrokovana amebama zbivaju se pretežito u debelom crijevu, iako se uzročnik može proširiti i u druga tkiva. Jetrena amebijaza se očituje u obliku apscesa koji su osobito opasni jer mogu probiti trbušnu stjenku ili dijafragmu i proširiti se na pluća. Smatra se da intenzitet kliničke slike ovisi o soju uzročnika, imunosti organizma te mogućim popratnim virusnim i bakterijskim infekcijama.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Bolest se u ljudi diagnosticira 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 diagnosticirati nalazom trofozoita u sputumu i biopsatu. Rendgenografska pretraga prikladna je za otkrivanje apsesa 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 stjenke 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 imunostu, poput onih oboljelih od AIDS-a, su osobito osjetljive.

Rizična hrana

Amebijaza se prenosi cistama, kontaminiranom hranom i vodom, ali i neposrednim dodirom 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

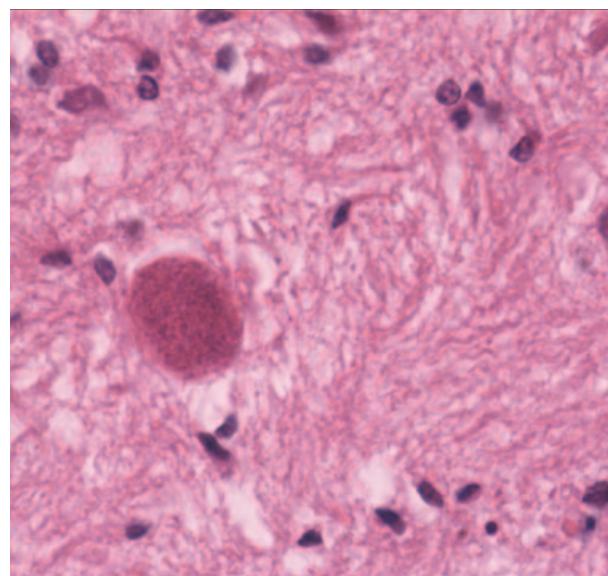
Toxoplasma gondii je kokcidija koja može invadirati gotovo sve vrste stanica (organe i tkiva) s posebnim afinitetom prema mišićnom i živčanom tkivu.

Razvojni ciklus ovog parazita je kompleksan. Spolna se faza odvija samo u crijevnom epitelu mačaka (enteroepitelna faza), a završava s produkcijom oocista. 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 podjeliti 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 limfnih čvorova područja ispod ključne kosti te preponskog i vratnog područja popraćeni s glavoboljom, povišenom temperaturom, anemijom, bоловимa u mišićima i ponekad plućnim komplikacijama. Akutni oblik je posljedica brzog širenja tahizoita koji razaraju invadirene 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, intrakratianjalne 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 dostačni 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), direktni 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 imunkompromitirani 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 zaštiti i njih i plod od invazije. Toksoplazmoza je također učestalija 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% vegetarianaca što jasno ukazuje da nedovoljno oprano povrće, ali i voće može biti povezano s toksoplazmom.

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. kobasicice) jer tkivne ciste mogu preživjeti 50°C barem 10 minuta, a koncentraciju soli (NaCl) do 3% preživljavaju tjeđan 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 i *Cryptosporidium parvum*

Opis uzročnika

Sporulirane oociste (veličine $5 \times 4,5 \mu\text{m}$) sadrže 4 sporozita koji se izlučuju iz probavnog sustava nosioca, nakon čega se sporoziti 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.

Kriptosporidiye 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 (izolirati 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.

Unutar dva najznačajnija predstavnika *C. parvum* i *C. hominis* također postoji značajna heterogenost izolata.

Naziv bolesti

Bolest koju izazivaju ovi protozoi zove se kriptosporidioza.

Invazijska doza i klinička slika bolesti

Invazijska doza veoma je niska, a iznosi od jedne do deset oocisti. Invazija s *Cryptosporidium* spp. ima za posljedicu čitav niz kliničkih manifestacija koje mogu biti od prilično blagih, gotovo asimptomatskih, pa sve do veoma teških i po život opasnih. Inkubacija kriptosporidioze može trajati od 2 do 10 dana, s prosjekom od 7 dana. Najčešći simptom predstavlja vodenasti proljev koji može biti popraćen s posljedičnom dehidracijom, gubitkom težine, izražajnim abdominalnim bоловимa, povišenom temperaturom, mučninom i povraćanjem. Ostali, nespecifični simptomi koji se povremeno mogu javiti tijekom bolesti su bol u mišićima, slabost i glavobolja.

Puno teži simptomi mogu biti izraženi u imunokompromitiranih bolesnika kod kojih je razina CD4 manja od 200/ μl . Tada bolest može trajati mjesecima te predstavlja opasnost po život. Premda je u pravilu kriptosporidiozom zahvaćeno tanko crijevo, bolest može obuhvatiti i druge dijelove probavnog sustava kao i respiratorni trakt.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

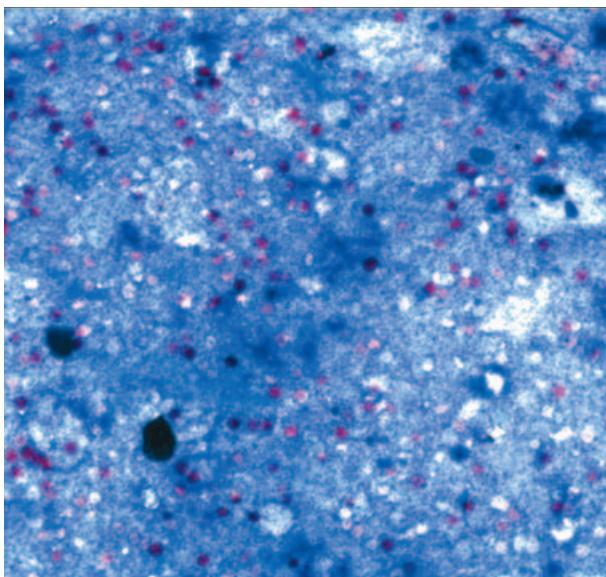
Klinička slika s proljevom nije toliko specifična samo za kriptosporidiozu tako da se dijagnoza postavlja dokazivanjem oocisti u stolici. Najčešće se koriste koprološke metode s koncentracijom parazita (flotacija) koje nisu u pravilu dovoljno osjetljive te se često kriptosporidije mogu previdjeti. Točnije i bolje metode su one gdje se koriste specifična bojenja (npr. modificirani Ziehl-Neelsen), no točnost ovih metoda je relativno niska (**slika 2**). Metoda izbora s visokom osjetljivošću je

direktna imunofluorescencija gdje se koriste specifična monoklonska protutijela za dokazivanje parazita u uzorku (**slika 3**).

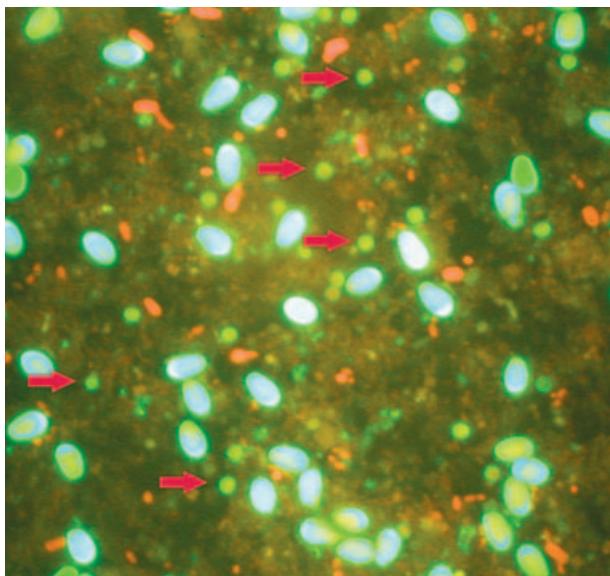
Osim ovih ranije navedenih metoda, imunoenzimski test (ELISA) veoma se često koristi u rutinskoj dijagnostici. Dobra alternativa ovim konvencionalnim metodama s vrlo visokom točnošću je lančana reakcija polimeraze kojom se može odrediti vrsta, genotip i podtip ovog parazita.

Učestalost bolesti

Nekoliko epidemiološki studija je dokazalo da je oko 50% pretraženih seruma sadržavalo *Cryptosporidium* specifična protutijela IgG razreda što ukazuje na veliku izloženost ovom parazitu i dokaz je da su ti ljudi bili u kontaktu s kriptosporidijama. Procjenjuje se da je u razvijenim zemljama 2,1% ljudi imalo dijareje uzrokovane *Cryptosporidium* spp. dok je u ne-



Slika 2. Jaka invazija kriptosporidijama. Oociste su obojane crveno modificiranom Ziehl-Neelsen metodom



Slika 3. Direktna imunofluorescencija je metoda izbora za dokazivanje parazita. Oociste **kriptosporidija** su označene strelicama.

razvijenim zemljama ovaj postotak znatno viši, a iznosi 6,1%. U Italiji su protutijela utvrđena u 75% dobrovoljnih davaoca krvi. Dosad se najznačajnija i najveća invazija kriptosporidijama desila u Milwaukeeju 1993. godine kada se vodom iz lokalnog vodocirpilišta invadiralo 403 000 ljudi. U Europi se redovito utvrđuju epidemije uzrokovane kriptosporidijama, a izvor invazije je primarno kontaminirana voda i hrana.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Bolest je samolimitirajućeg karaktera i traje od jedan do tri tjedna, a ovisi o imunološkom stanju nosioca. U imunokompromitiranih bolest može biti kobna, a u pravilu proljevi traju i nekoliko mjeseci. Osim što dovode do dugotrajnog proljeva kriptosporidije mogu kolonizirati i druga tkiva i organe pa su tako dokazane u plućima, pankreasu, žučvodima. Dodatnu

otežavajuću okolnost predstavlja činjenica da nema adekvatnog lijeka protiv kriptosporidioze.

Rizična populacija

Kriptosporidioza predstavlja veoma značajan rizik za imunokompromitiranu populaciju ljudi. Osim *Cryptosporidium hominis* i *Cryptosporidium parvum*, koje su u pravilu uzročnici kriptosporidioze u imunokompetentnih, ostale potencijalno zoonotske vrste *Cryptosporidium meleagridis*, *Cryptosporidium felis*, *Cryptosporidium canis*, *Cryptosporidium suis* i *Cryptosporidium muris* mogu uzrokovati kriptosporidiozu u imunosuprimiranih. Djeca također predstavljaju rizičnu skupinu jer akutne invazije mogu zbog nepotpune razvijenosti imunološkog sustava prijeći u kronični oblik što za posljedicu ima smetnje u razvoju.

Rizična hrana

Kriptosporidioza se primarno prenosi vodom koja se smatra glavnim uzrokom epidemija. Osim neposredne invazije, voda može kontaminirati hranu u procesu proizvodnje i tako je pretvoriti u izvor invazija.

Gotovo svu sirovu povrće, a posebice ono koje nije zaštićeno od moguće kontaminacije životinjskim i ljudskim fecesom ili je gnojeno prirodnim gnojem može biti izvor invazije. Svježe nepasterizirano mlijeko, voće i svježi nepasterizirani voćni sokovi kao i nedovoljno termički obrađeno meso, poglavito piletina, poznati su kao izvor kriptosporidioze.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Pretraga hrane i vode provodi se koncentriranjem oocisti iz uzoraka vode, odnosno ispiraka hrane. Nakon koncentriranja pomoću filtera oociste je potrebno izdvojiti imunomagnetskom separacijom ili centrifugiranjem u gradijentu gustoće. Izdvojene oociste se zatim pretražuju pomoću nekoliko uobičajenih mikroskopskih metoda, od nativnog mikroskopiranja pa

do točnije pretrage u kojoj se koriste monoklonska protutijela koja oboje oociste te znatno poboljšavaju točnost metode. Nedostatak ovih metoda je što se ne mogu razlikovati vrste kriptosporidija, nego se jedino može utvrditi njihova prisutnost u uzorku. Za razlikovanje vrsta, ali i dokazivanje prisutnosti kriptosporidija koriste se različiti sustavi lančane reakcije polimeraze što je i ključno u utvrđivanju izvora invazije.

Smanjenje rizika

Rizik se može smanjiti izbjegavanjem korištenja potencijalno kontaminirane vode oocistama, najčešće podrijetom iz domaćih životinja (osobito farmi goveda).

Giardia duodenalis

Opis uzročnika

Protozoon *Giardia duodenalis* je bičaš koji parazitira u crijevu ljudi, domaćih životinja, posebice stoke, pasa, mačaka, ali i svih ostalih životinja čije je stanište blizu ljudi kao i divljih životinja. Ovaj parazit ima širok spektar nosilaca tako da je njegov patološki potencijal prepoznat i u ljudi. U razvoju prepoznajemo dva razvojna oblika: jedan pokretni trofozoit koji je bilateralno simetričan, elipsoidnog ili kruškastog oblika, veličine 12-15 µm x 6-8 µm, konveksne gornje površine. Na donjoj površini nalazi se veliki disk karakterističan za ovaj rod kojim prijava na površinu stanice tankog crijeva. Nepokretni oblik je cista koja se izlučuje fecesom i u kojoj dolazi do binarne diobe parazita. Veličine su 8-12 µm x 4-10 µm i predstavljaju invazivni oblik ovog parazita. Ovojnica ciste (**slika 4**) čini ih veoma rezistentnim na vanjske uvjete, tako da mogu preživjeti i biti invazivne nekoliko mjeseci.

G. duodenalis (*G. intestinalis*, *G. lamblia*) predstavlja morfološki jedinstvenu, ali genetski različitu skupinu parazita od kojih dvije genetske skupine parazitiraju u ljudi (skupina A i

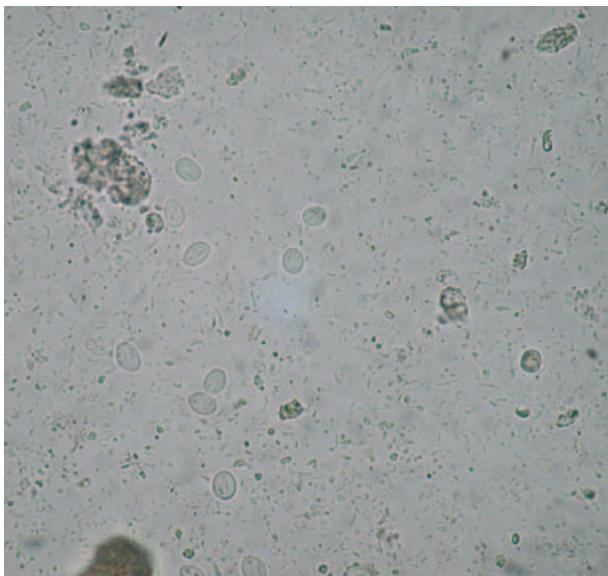
skupina B). Skupine C, D, E, F i G parazitiraju samo u različitim vrsta životinja, međutim u životinja parazitiraju i zoonotske skupine A i B. Svrstana je u skupinu *Zoomastigophorea* u red *Diplomonadida*.

Naziv bolesti

Bolest koju uzrokuje ovaj bičaš naziva se giardioza, premda je uvriježen i naziv lamblijaza.

Invazijska doza i klinička slika bolesti

Invazijska doza nije određena, no uspješne su bile invazije ljudi i s 10 cisti što ukazuje da su i minimalne doze dovoljne za invaziju. Invazijska doza ovisi o genetskoj skupini *Giardia* kao i o imunološkom statusu i uhranjenosti nosioca. O ovim će čimbenicima ovisiti i klinička slika giardioze koja može varirati od potpunog izostanka simptoma pa sve do teških akutnih ili kroničnih proljeva s posljedičnom nepotpunom apsorpcijom



Slika 4. Ciste **gijardija** s dobro vidljivim ovojnicama.

hranjivih tvari. Karakterističan je proljev, najčešće žućkast, slabost, gubitak težine i abdominalna bol, a mogu se pojaviti i simptomi mučnine, povraćanje i povišena temperatura. U većini slučajeva u imunokompetentnih osoba bolest je samolimitirajućeg karaktera i traje 2 do 4 tjedna. Bitno je naglasiti da 30 do 50% invadiranih ostaje kronično invadirano te se kod njih mogu javiti povremene probavne smetnje koje mogu biti komplikirane s drugim infekcijama. U djece su posebice opasne kronične invazije koje mogu dovesti do poremećene resorpcije hranjivih tvari.

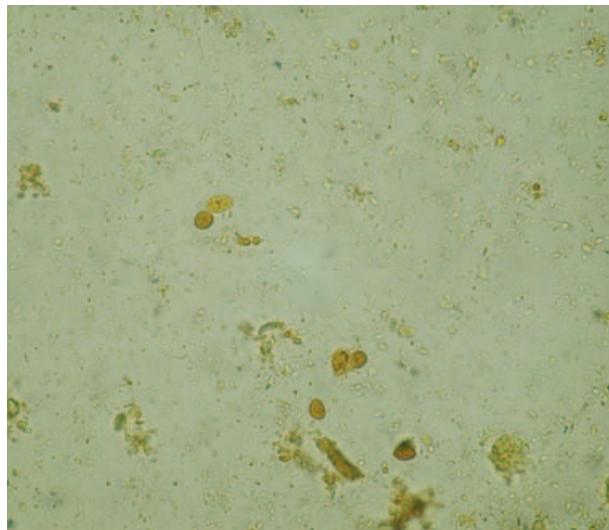
Dijagnostika bolesti u čovjeka

Bolest se dijagnosticira dokazivanjem cisti ili trofozoita u izmetu koprološkim metodama flotacije, a zatim bojenjem preparata Lugolovom otopinom (**slika 5**). Znatno točnija i osjetljivija je direktna imunofluorescencija na površinske proteine cisti koje se standardnom koprološkom pretragom lako mogu previdjeti (**slika 6**). Također se mogu koristiti i imunoenzimski testovi za dokazivanje antigena u stolici, odnosno površinskih proteina cisti. Za dokazivanje izvora invazije nužno je izvršiti genetsku tipizaciju uzročnika lančanom reakcijom polimeraze koja je ujedno i najosjetljivija metoda pretrage.

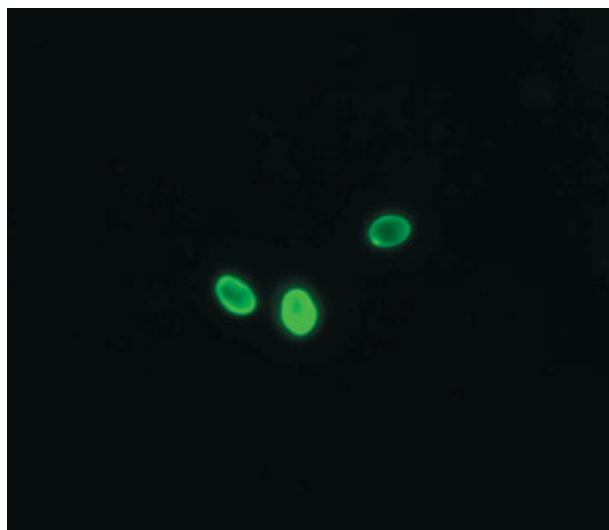
Učestalost bolesti

U Hrvatskoj ne postoje službeni podaci o učestalosti u ljudi. U zemljama u razvoju od ukupnog broja proljeva ljudi 20% otpada na one uzrokovane giardijama. U razvijenim zemljama postotak je znatno manji, a varira 3 - 7%. Nije poznato koliki je postotak ljudi invadiran jer se asimptomatski kliconoše u pravilu ne podvrgavaju testiranju.

U životinja koje mogu predstavljati izvor invazije podaci variraju ovisno o životinjskoj vrsti, tako da je gotovo 100% farmi goveda pozitivno, s visokom učestalošću zoonotske skupine A. Psi su invadirani u 20% slučajeva, a u njih se često nalaze zoonotske skupine A i B. Općenito, postotak invadiranosti je viši u mlađih životinja.



Slika 5. Ciste *gijardija* obojene Lugolovom otopinom



Slika 6. Direktna imunofluorescencija je najosjetljivija metoda dokazivanja cisti *gijardija*. Posebice je značajna u dijagnostici blagih invazija.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Premda bolest najčešće prolazi bez simptoma, tijek bolesti varira ovisno o genetskoj skupini *Giardia*. Kada se bolest manifestira, ona je samolimitirajućeg karaktera i traje 2 do 4 tjedna, a tijek, osim o genetskoj skupini, ovisi i broju parazita u crijevu. U imunosuprimiranih proljevi ne prestaju i značajno narušavaju zdravstveno stanje, dok u imunokompetentnih bolest najčešće prelazi u kronični oblik. Komplikacije su česte ukoliko dođe do sekundarnih infekcija ili konkurentnih invazija drugim parazitima posebice s *Cryptosporidium* spp.

Rizična populacija

Djeca su najčešće invadirana, a posebice su ugrožena ona sa oštećenim imunološkim sustavom kao i svi imunosuprimirani kod kojih ne dolazi do samoizlječenja, već bolest prelazi u kronični oblik s povremenim proljevima.

Rizična hrana

Tipičan je fekalno-oralni prijenos putem vode ili hrane koje sadrže ciste. Učestao način invazije je i neopranim voćem i povrćem koje se proizvodi na farmama gdje se koristi prirodno gnojivo. Invazije mogu biti posljedica neposrednog kontakta, putem vode ili hrane koja je kontaminirana vodom u kojoj se nalaze ciste. Izvor kontaminacije hrane su i nosioci kod kojih nema izraženih znakova bolesti, a koji rukuju s hranom te je kontaminiraju direktno ili kontamini-

raju površine koje su u doticaju s hranom.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Hrana se pretražuje ispiranjem i zatim sedimentiranjem i koncentriranjem cisti. Sediment se pregledava imunofluorescencijom, imunomagnetskom separacijom ili lančanom reakcijom polimeraze. Ostale metode nisu dovoljno točne i specifične da bi se mogao dokazati manji broj cisti koji je dostatan za invaziju.

Voda se pretražuje filtriranjem veće količine vode te se filteri pretražuju imunofluorescencijom, imunomagnetskom separacijom i lančanom reakcijom polimeraze. U oba slučaja lančanom reakcijom polimerazom se može odrediti o kojoj se genetskoj skupini giardija radi, a samim time može se odrediti i izvor kontaminacije.

Smanjenje rizika

Treba izbjegavati unošenje vode i hrane potencijalno kontaminirane cistama.

Metilji koji se prenose hranom

Fasciola hepatica

Opis uzročnika

Fasciola hepatica je životinjski jetreni metilj (**slika 7**) koji može parazitirati i u čovjeku. Dug je 30 mm te širok 13 mm. Ovaj se metilj vrlo učestalo nalazi u žučovodima ovaca i goveda, iako nisu rijetki nalazi ni u ostalih životinja. Razvija se preko posrednika puža barnjaka (*Lymnaea truncatula*). Razvoj započinje polaganjem velikih jaja (duga 130 do 150 mikrometara te široka 63-90 mikrometara) koja su žutosmeđe boje te posjeduju poklopčić na jednom polu. Jaja sa žuči dolaze u crijevo te zajedno sa sadržajem crijeva izlaze van. Daljnji razvoj unutar jajeta odvija se isključivo u vodi. Nakon 4 do 15 dana boravka u vodi pri temperaturi od 22°C, u jajetu se razvija miracidij. Miracidij treba pronaći prikladnog posrednika (puža) tijekom samo 8 sati. Nakon prodiranja u puža mi-



| **Slika 7. *Fasciola hepatica* - adult.**

racidij se pretvara u sljedeći razvojni oblik, tzv. sporocistu. Unutar sporociste razvijaju se redije koje se kasnije pretvaraju u cerkarije. Cerkarije izlaze iz puža te plivaju do prikladne čvrste podloge (najčešće stabljike biljaka u vodi). Na podlozi iz cerkarije nastaje učahureni oblik (metacerkarija) kojim se zaražava životinja ili čovjek.

Naziv bolesti

Bolest uzrokovana metiljem *Fasciola hepatica* naziva se fasciozoa.

Invazijska doza i klinička slika bolesti

Invazijska doza može biti vrlo mala. Iz svake unesene metacerkarije razvija se jedan odrasli metilj.

U ljudi se fasciozoa odlikuje ekstenzivnim razaranjem jetrenog tkiva, žučovoda kao i krvarenjem. Početni znakovi fascioze uključuju snažne glavobolje, bolove u leđima i groznicu.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Dijagnostika se temelji na prepoznavanju karakterističnih jaja u stolici (**slika 7a**). Vrlo prikladnom metodom se pokazala kompjuterska tomografija. Za postavljanje dijagnoze može se koristiti i nalaz protutijela pretragom seruma uz pomoć imunoenzimskog testa.

Učestalost bolesti

U Hrvatskoj je bolest u ljudi vrlo rijetka što nije slučaj u svijetu (osobito na području Španjolske, Bliskog istoka i Azije).

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Pored mehaničkog oštećenja, metilj je odgovoran i za upalu uzrokovana izlučivanjem metabolita. Mladi metilji mogu zalistati u tjelesne šupljine te se nastaniti i u nekim drugim tkivima.

Rizična populacija

Ljudi koji konzumiraju samoniklo jestivo bilje koje raste u naplavnim područjima.

Rizična hrana

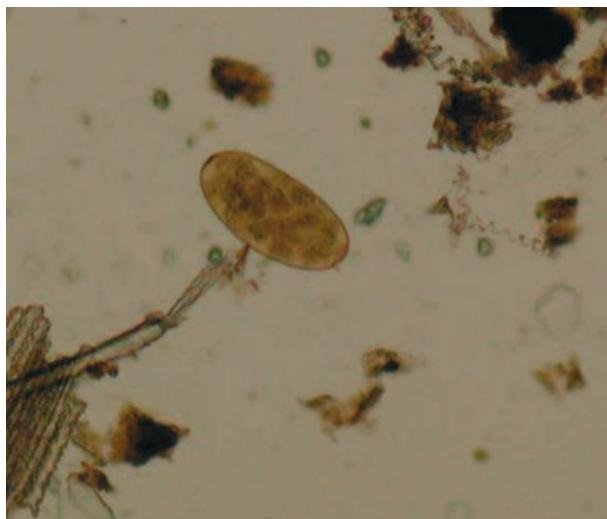
Samoniklo jestivo bilje na kojem se nalaze metacerkarije.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Nisu poznate metode kojima bi se sa sigurnošću mogla pregledati hrana.

Smanjenje rizika

Izbjegavanje konzumacije samoniklog jestivog bilja sakupljenog na područjima s rizikom od fascioze (naplovna područja).



Slika 7a. Jaje *F. hepatica* u stolici.

Trakavice koje se prenose hranom

Trakavice *Taenia solium* i *Taenia saginata*

Opis uzročnika

Taenia saginata i *Taenia solium* su velike trakavice (**slika 8**) čovjeka koje nastanjuju tanko crijevo. Promatrane golinom okom međusobno su slične. Ono što ih razlikuje je izgled glavice. Trakavica *T. saginata* na glavici nema vijenac kukica poput trakavice *T. solium*. Međusobno se razlikuju i prema građi uterusa unutar gravidnih članaka kao i posrednicima u kojima se kao ličinke nalaze. *T. saginata* za posrednika koristi papkare, naročito govedo (**slika 9**). *T. solium* za posrednika koristi svinju (**slika 10a i b**). *T. saginata* je duga od 35 do 65 cm premda su zabilježeni primjeri dugi i do 225 cm. Tijelo se sastoji od prosječno 1000 članaka. Unutar članaka odrasle trakavice *T. saginata* nalaze se jajnici s dva režnja te dvostruko veći broj testisa s obzirom na trakavicu *T. solium*. Gravidni uterus trakavice *Taenia saginata*



| **Slika 8.** *T. saginata* iz crijeva čovjeka.



Slika 9. Ličinke trakavice *T. saginata*, *Cysticercus bovis* u mišiću goveda.



Slika 10b. Ličinke trakavice *T. solium*, *Cysticercus celulosae* u mišiću svinje.



Slika 10b. Ličinke trakavice *T. solium*, *Cysticercus celulosae* u mišiću svinje.

ta posjeduje 12 glavnih lateralnih grana. Trakovica *T. solium* duga je od 180 do 400 cm, premda su zabilježeni primjeri koji su dosegli dužinu od 800 cm. Sadrži oko 800 do 900 članaka. Gravidni članci trakovica (*T. saginata* i *T. solium*) odvajaju se od tijela trakovice te izlaze stolicom van. Jaja moraju biti unesena od strane prikladnog posrednika. Nakon što jaje trakovice *T. saginata* dospije u crijevo prikladnog posrednika, oslobodit će se onkosfera koja će prodrijeti kroz crijevnu stjenku te biti prenesena limfom ili krvlju do međumišićnog vezivnog tkiva gdje će se razviti u ličinku (cisticerk). Ličinka trakovice *T. saginata* naziva se *Cysticercus bovis*. Ljudi se zaraze nakon što unesu cisticerke unutar nedovoljno kuhanog ili sirovog goveđeg mesa, osobito mišića glave te srca. Nakon što jaje *T. solium* dospije u crijevo prikladnog posrednika, oslobodit će se onkosfera koja će prodrijeti kroz crijevnu stjenku te biti prenesena limfom i krvlju do mišića te različitih organa. Nakon što čovjek unese ličinku u crijevu dolazi do tzv. izvrnuća glavice trakovice, njenog prihva-

čanja za stjenku tankog crijeva te nastanka članaka i njenog razvoja do spolne zrelosti koja nastupa već za 8 do 10 tjedana.

Naziv bolesti

Bolest koju uzrokuje trakavica *Taenia saginata* naziva se tenijaza, a bolest koju uzrokuje ličinka ove trakavice zove se cisticerkoza.

Invazijska doza i klinička slika bolesti

Invazijska doza je vrlo mala jer trakavica koja je redovito duga nekoliko metara nastaje iz samo jedne ličinke. Tenijaza uzrokovana trakavicom *T. saginata* često je popraćena trbušnim bolovima, smanjenim tekom te gubitkom težine. Ovi znakovi su osobito izraženi u bolesnika koji boluju od drugih bolesti. Za razliku od trakavice *T. saginata*, trakavica *T. solium* je mnogo opasnija jer ju prati i razvoj cistica koji se vrlo često razvijaju na području mozga, premda se mogu naći u bilo kojem drugom organu.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Dijagnoza se postavlja nalazom tipičnih članaka. S obzirom da su jaja ovih tenija morfološki jednaka, dijagnostika se temelji na prepoznavanju morfologije uterusnih ogranača kojih u trakavice *T. solium* ima 7 do 12, dok ih je u trakavice *T. saginata* redovito više od 12. Cisticerkoza uzrokovana ličinkama trakavice *T. solium* može se dijagnosticirati pronalaženjem protutijela u serumu metodom western blottinga.

Učestalost bolesti

U Hrvatskoj je bolest rijetka. U svijetu je bolest uzrokovana trakavicom *T. solium* vrlo česta u siromašnim zemljama gdje ljudi žive u bliskom dodiru sa svinjom (Srednja Amerika).

Tijek bolesti i moguće komplikacije

U čovjeku najčešće parazitira samo jedna odrasla trakavica. Glavica trakavice *T. Solium*, naoružana kukicama, može uzro-

kovati oštećenja sluznice crijeva pa su zabilježeni slučajevi probijanja stjenke popraćenih upalom potrbušnice.

Rizična populacija

Osobe koje se hrane sirovom ili nedovoljno kuhanom govedinom ili svinjetinom.

Rizična hrana

Nedovoljno termički obrađena govedina ili svinjetina.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Analitika hrane na prisutnost jaja nije standardizirana i teško je provediva. Iako postoji obvezni veterinarsko sanitarni pregled mesa na prisutnost cistica, nedavna zbivanja povezana s pojavom goveđe cisticerke govori u prilog nedostatnosti pretrage.

Smanjenje rizika

Rizik se može smanjiti izbjegavanjem konzumacije mesa koje nije termički obrađeno. Redoviti parazitološki pregledi osoba koje posluju s hranom su vrlo važni.

Diphyllobothrium latum i druge trakavice iz roda *Diphyllobothrium*

Opis uzročnika

Diphyllobothrium latum je nametnička trakavica koja se kao larva nalazi u slatkovodnih riba, a kao odrasli oblik (široki članici, do deset metara duga trakavica) u različitim sisavaca (često medvjeda), uključujući i čovjeka. Kao odrasli oblik (**slika 11**) parazitira u jejunumu i ileumu prihvatajući se botrijama (brazdama na glavici) za stjenku. Iz gravidnih članaka izlaze jaja koja

fecesom mogu dospjeti u vodu u kojoj embrioniraju za osam do dvanaest dana. Iz jaja izlazi tzv. koracidij kojeg mora progutati slatkovodni veslonožac (račić), u kojem se razvijaju u tzv. procerkoide koji su invazijski za ribu. U ribi procerkoid bušenjem stjenke crijeva migrira u mišićno tkivo gdje se za jedan do četiri tjedna razvija u plerocerkoid velik 2 do 4 cm. Konačni nositelji, uključujući čovjeka, invadiraju se konzumiranjem ribljeg mesa s plerocerkoidima. U konačnim nositeljima i čovjeku, iz plerocerkoida u crijevu razvijaju se odrasle trakavice.

Naziv bolesti

Bolest uzrokovana trakavicama iz roda *Diphyllobothrium* nazivamo difilobotriaza.

Invazijska doza i klinička slika bolesti

Za invaziju je dovoljan samo jedan plerocerkoid. Bolest se očituje proširenjem abdomena, flatulencijom, povremenim



Slika 11. Trakovica iz roda *Diphyllobothrium*.

abdominalnim grčevima i proljevom tek desetog dana nakon konzumiranja sirove, nedovoljno kuhanе ili konzervirane ribe. Bolest prati i mršavljenje, slabost, znakovi megaloblastične perniciozne anemije te živčani poremećaji. Većina kliničkih znakova uzrokovana je toksičnim učinkom metabolita trakavice. Živčani poremećaji mogu se povezati i sa psihosomatiskom reakcijom na prisutnost nametnika. Liječenje (uništavanje trakavice) se uspješno provodi niklozamidom.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Dijagnoza se postavlja nalazom tipičnih jaja s poklopčićem u stolici, i to kao rezultat uobičajene sedimentacije. Članke je moguće dokazati u stolici i u povraćenom sadržaju.

Učestalost bolesti

Bolest je najučestalija u područjima s populacijom koja se pretežito hrani ribom. Bolest je česta u Podunavlju (Češka, Austrija, Mađarska), Švicarskoj, Japanu, Argentini, Peruu i Australiji. Invazija je zabilježena i kao posljedica nehotičnog unošenja plerocerkoida prilikom čišćenja ribe.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

U osoba s genetskom prijeljivosti (osobe skandinavskog podrijetla) može se razviti izrazita anemija. Anemija nastaje kao posljedica selektivnog oduzimanja vitamina B12.

Rizična populacija

Invazija je tipična za populaciju koja se hrani sirovom ili nedovoljno kuhanom, prekratko vrijeme sušenom, neprikladno konzerviranom ili nedovljno smrznutom ribom.

Rizična hrana

Opasnost predstavlja slatkovodna riba koja u sebi sadrži plerocerkoide.

Dokazivanje uzročnika u hrani

U rizičnim područjima ribe se mogu rutinski pretraživati na prisutnost plerocerkoida temeljito rezovom rezova ili pak umjetnom probavom mišićnog tkiva.

Smanjenje rizika

Rizik od ovog nametnika može se smanjiti konzumiranjem kuhanе, temeljito sušene i duboko smrznute (-18°C) ribe.

Echinococcus granulosus

Opis uzročnika

Odrasli oblik trakavice *Echinococcus granulosus* živi u tankom crijevu psa (slika 12), dok se licinka u drugim tkivima posrednika (različiti sisavci, uključujući čovjeka) razvija u veliku cističnu tvorbu (hidatidni mjeher). Čovjek se invadira gutanjem jaja trakavice putem hrane ili vode ili pak zaprljanim rukama. Iz jaja u tankom crijevu izlazi tzv. onkosfera koja prodire u sluznicu gdje pronalazi put do krvotoka. Krvotokom se proširi po tijelu. Najčešće se zaustavlja u jetri, premda postoje brojni slučajevi kada se iz nje razvija larvalni oblik i to u bubrežima, plućima, slezeni, srcu, mišićima, mozgu i koštanoj srži. Hidatidna cista raste sporu te veličinu od deset mm postiže za pet mjeseci (slika 13). Unutar hidatidne ciste razvijaju se tzv. protoskoleksi (slika 14) koji su inače invazijski samo za konačne nositelje, npr. psa.

Naziv bolesti

Bolest uzrokovana larvalnim oblikom u čovjeka naziva se ehinokokoza ili humana hidatidoza.

Invazijska doza i klinička slika bolesti

Invazija može nastupiti sa svega jednim jajetom. Larvalni oblik ne šteti zdravlju toksičnim niti bilo kakvim uplitanjem u čovjekov metabolizam. Najveća opasnost dolazi od meha-

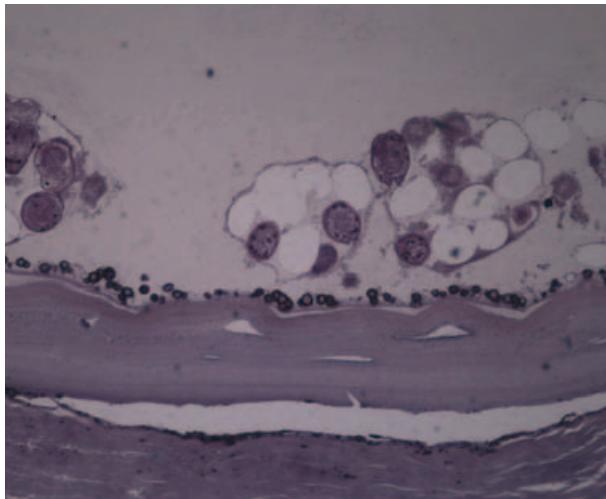
ničkog pritiska na organ ili tkivo. Opasnost se povećava rastom ciste. U mekim i elastičnim organima potrebno je više vremena da se pojave prvi klinički znakovi. Znakovi se prijejavljaju kada se razvija u oku ili mozgu. Razvoj u kostima očituje se velikom bolnošću i čestim lomovima.



Slika 12. Odrasli oblik trakavice *E. granulosus* iz crijeva.
(Fotografija doc.dr. T. Živičnjak)



Slika 13. Hidatidne ciste u jetri svinje. (Fotografija doc.dr. T. Živičnjak)



Slika 14. Protoskoleksi (hidatidni pjesak) se razvijaju iz germinativnog epitela hidatidne ciste.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Osim epidemioloških podataka, kliničke slike i serološkog nalaza, danas ključnu ulogu u dijagnosticiranju ehinokokoze imaju ultrazvučna i rendgenografska dijagnostika i dijagnostika kompjuteriziranim tomografijom.

Učestalost bolesti

Ehinokokoza je vrlo rasprostranjena bolest, prisutna u gotovo svim krajevima svijeta s umjerenom klimom i razvijenim ovčarstvom. Kod nas je učestala u svim tradicionalnim ovčarskim krajevima.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Hidatidni mjehuri u trbušnoj šupljini mogu prsnuti uslijed nalog povećanja tlaka u trbušnoj šupljini. Velika opasnost punanja ciste je prosipanje protoskoleksa iz kojih se mogu razviti sekundarne ciste. Takvo stanje naziva se sekundarna ehinokokoza i uglavnom završava smrtnim ishodom što se dešava i

pri razvoju larvi u mozgu i srcu. Kod prskanja cisti u plućima može doći do ozbiljnih komplikacija poput gušenja uzrokovanih začepljivanjem dišnih putova. Uzrok gušenja može biti i anafilaktička reakcija.

Rizična populacija

Ehinokokoza je bolest koja se može povezati s neposrednim dodirom sa psima kao i lošim higijenskim navikama te uzgojem povrća i voća koje može biti zagađeno psećim izmetom. Trakovica *Echinococcus granulosus* je parazit koji se vrlo uspješno razvija putem ovce. Za naglasiti je da su ovčarski psi oni koji služe kao rezervoar invazije za ljudi. Ljudi koji nastanjuju područja u kojem je evidentan problem pasa latalica smatraju se izričito rizičnom skupinom.

Rizična hrana

Neoprano voće i povrće uzgajano u vrtovima u kojima slobodno borave psi.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Sumnjiva hrana može se pregledati ispiranjem. Jaja ove trakovice su tipičnog tenidnog tipa i nimalo se ne razlikuju od jaja drugih trakovica unutar porodice *Taenidae*.

Smanjenje rizika

Kontrola ehinokokoze temelji se u prvom redu na kontroli ciklusa u prirodi. Redovita dehelmintizacija pasa, kontrola pasa latalica, inspekcijska kontrola klanja i onemogućavanje prehrane pasa higijenski neispravnim mesom i iznutricama, u većini zemalja dovela je do smanjene učestalosti ili potpune iskorijenjenosti ehinokokoze.

Oblići koji se prenose hranom

Anisakis simplex i ostali oblići iz porodice *Anisakidae*

Opis uzročnika

Oblić *Anisakis simplex* te oblići iz rodova *Pseudoterranova*, *Contracaecum*, *Phocanema* i *Hysterotelacium* su pripadnici porodice *Anisakidae* (anisakidi) inkriminirane za ozljede u želucu ljudi. Anisakidi uključuju velik broj različitih oblića koji se nalaze u želucu i crijevima različitih morskih sisavaca (dupini, kitovi, tuljani) koji se hrane ribom. Larve trećeg stupnja, koje dosežu dužinu od dva do tri centimetra, često se nalaze u tjeslim šupljinama, jetri i mišićima brojnih morskih riba koje ujedno služe i kao posrednici ili paratenični nositelji.

Naziv bolesti

Bolest uzrokovana različitim uzročnicima unutar porodice *Anisakidae* nazivamo anisakidozom.

Invazijska doza i klinička slika bolesti

Dovoljna je samo jedna larva za nastup bolesti. Čovjek se invadira konzumiranjem nedovoljno toplinski obrađene ribe koja sadrži larve u mišićnom tkivu. Nakon što dospije u želudac ili crijevo, larva trećeg stupnja prodire dublje u stjenku čime potiče upalnu reakciju s posljedicom nastanka lokaliziranih granuloma ili pak većih eozinofilnih tumoru sličnih two-revina koje krvare. Upalom uzrokovano zadebljanje stjenke može imati za posljedicu intestinalnu opstrukciju, peritonitis, ali i nastanak apscesa. Tijekom opsežnih invazija u bolesnika zabilježeni su abdominalni bolovi. Bolest prati i žarenje u grlu. Tijekom opsežnih invazija javlja se bol poput one koja prati akutni apendicitis. Nastup boli popraćen je i mučninom. Klinički znakovi nastupaju u razdoblju od jednog sata pa sve do dva tjedna nakon konzumacije sirove ili nedovoljno toplinski obrađene ribe. Kako anisakidi vrlo rijetko dostižu potpunu

zrelost u ljudi, najčešće bivaju izbačeni tijekom tri tjedna nakon invazije. Ličinke koje ugibaju u tkivu bivaju razgrađene od strane fagocita.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

U sumnjivih pacijenata koji povraćaju ili pak u njihovu iskašljaju mogu se lako determinirati larve. Nalaz larvi u želucu može se potvrditi i endoskopskom pretragom tijekom koje se prikladnim priborom larva može i odstraniti. Neki se slučajevi dijagnosticiraju nalazom granulomatoznih oštećenja u kojima se nalazi larva i to tijekom laparotomije.

Učestalost bolesti

Anisakidi predstavljaju značajnu javnozdravstvenu opasnost u ljudi koji konzumiraju sirovu, nedovoljno kuhanu ili nedovoljno smrznutu ribu, osobito u Japanu i skandinavskim državama te SAD-u. U posljednje vrijeme bilježi se veća učestalost bolesti otvaranjem brojnih sushi i sashimi restorana. Dokazan je prijenos nametnika i konzumiranjem morskih plodova.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Većinu slučajeva anisakidoze prati snažna bol što zahtijeva hitnu kiruršku intervenciju. Promptno odstranjivanje ličinki je do sada jedini poznati način liječenja i smanjenja boli. Zaostale larve mogu uzrokovati suženje piloričkog sfinktera. Blaža bol ostaje i nakon uginuća larvi.

Rizična populacija

Osobe koje se hrane nekuhanom ribom i morskim plodovima.

Rizična hrana

Morske ribe (osobito haringa) i školjke.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Ribe se pregledavaju organoleptičkim postupkom.

Smanjenje rizika

U cilju smanjenja rizika komercijalni proizvođači su obvezni promptno smrzavati ribu što onemogućava migraciju larvi iz crijeva u mišićno tkivo. Rizik se može u potpunosti smanjiti ukoliko se konzumira temeljito kuhana i smrznuta riba.

Ascaris lumbricoides

Opis uzročnika

Ascaris lumbricoides (slika 15) je u svijetu najučestaliji oblik u ljudi koji parazitira u lumenu tankog crijeva. Ženke koje mogu doseći dužinu i do 40 centimetara polažu ogromnu količinu jaja (oko 200 000 jaja dnevno) koja izlaze iz organizma putem stolice. U povoljnim uvjetima okoliša jaja embriioniraju te se u njima razvija larva drugog stupnja koja unutar



Slika 15. Ženka adulta *A. lumbricoides*.

jajeta predstavlja invazijski oblik. Jaja su izuzetno otporna na isušenje. Larva unutar jajeta može preživjeti tijekom razdoblja dužeg od dvije godine. Jaja askaridnog tipa lako se prenose rukama, drugim dijelovima tijela, predmetima ili hranom. Čovjek se zarazi unošenjem embrioniranih jaja iz kojih u duodenumu izlazi larva. Ubrzo nakon oslobođanja larva sama prodire u sluznicu gdje ulazi u krvotok te putem vena putuje do jetre, a preko desne strane srca do pluća. Ova migracija larvi traje oko tjedan dana. U plućima se larve dva puta presvlače. Unutar pluća prelaze iz krvnih žila u zračne prostore (alveole, manje i veće bronhe i traheju) te na kraju dospijevaju u ždrijelo kada i budu progutane. Endogeni razvoj traje oko tri mjeseca.

Naziv bolesti

Bolest koju uzrokuju larve i odrasli oblići *Ascaris lumbricoides* naziva se askaridoza.

Invazijska doza i klinička slika bolesti

S obzirom na prirodu endogenog razvoja i migracije ovog oblića, može se istaknuti da se oštećenja mogu očekivati i nakon unošenja pojedinih jaja.

Invazija s malim brojem oblića uglavnom prolazi bez simptoma. Oblići se mogu naći u stolici ili u ždrijelu, odnosno mogu izaći kroz usta i nos. Invazija velikim brojem oblića ima za posljedicu upalu pluća. Prodiranje larvi u zračne prostore po-praćeno je groznicom te otežanim disanjem. Velik broj larvi u plućima može uzrokovati i nastanak manjih ugrušaka koji mogu biti uzrok fatalnog pneumonitisa. Blage poremetnje probave česta su posljedica crijevne invazije.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Dijagnoza se postavlja nalazom tipičnih askaridnih jaja u stolicama.

Učestalost bolesti

Oblići je kozmopolitski rasprostranjen u cijelom svijetu i vrlo je učestao, osobito u djece u manje razvijenim dijelovima svijeta.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Blage invazije prolaze bez simptoma. Invazije velikim brojem oblića redovito prate klinički znakovi.

U male djece odrasli oblići mogu potpuno začepiti crijevo. U nekim slučajevima neuobičajeno migriraju pa se mogu naći u različitim dijelovima tijela gdje uzrokuju komplikacije poput apsesa i hemoragijskog pankreatitisa (upala gušterice). Ukoliko odrasli oblići dospijevaju do želuca tada nastavljaju svoj put sve do ždrijela zbog čega može doći i do gušenja. U rijedim slučajevima mogu izaći i kroz nosnice. Kao posljedica liječenja odrasli oblici često odlaze u žučovode koje mogu začepiti. Oštećenjem stjenke tankog crijeva mogu nastati i lokalna krvarenja i upala potrbušnice. Klinički znakovi poput astme i otežanog spavanja najčešće su posljedice alergijske reakcije na metabolite kao i na tvari koje se oslobođaju iz uginulih oblića.

Rizična populacija

Osobe koje se hrane nekuhanim povrćem i voćem koje se uzgaja u tlu ili blizini tla gnojenog sadržajem iz septičkih jama.

Rizična hrana

Nedovoljno oprano povrće i voće uzgajano na tlu gnojenom sadržajem iz septičkih jama.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Jaja se mogu dokazati na povrću i voću.

Smanjenje rizika

Rizik se može smanjiti izbjegavanjem hrane (voća i povrća) koja je proizvedena u nehigijenskim uvjetima. U preventivni

ove bolesti neobično je važna osobna higijena te zabrana korištenja sadržaja septičkih jama za gnojenje. Redoviti parazitološki pregledi osoba koje posluju hranom su također vrlo važni.

Enterobius vermicularis

Opis uzročnika

Enterobius vermicularis je oblik koji nastanjuje debelo crijevo čovjeka. Ženke ovog obliča su duge od 8 do 13 mm, dok su mužaci manji i dosežu veličinu do 5 mm. Mužaci na svom stražnjem dijelu imaju zavijen rep. Ženke se odlikuju kutikularnom duplikaturom u obliku krila. Spolno zreli odrasli oblići najčešće nastanjuju područje na prijelazu tankog u debelo crijevo, premda se mogu pronaći i u drugim dijelovima tankog i debelog crijeva. Prianjući za sluznicu, oblići se hrane bakterijama i epitelnim stanicama. Nakon oplodnje, mužaci ugibaju, dok gravidne ženke sa čak 15000 jaja u uterusu izlaze van te migriraju u područje oko čmara gdje polažu jaja. Nakon što polože jaja, ugibaju. Jaja su duga 50 do 60 mm te široka 20 do 30 mm. Na svom jednom kraju su spljoštena. Za invaziju sposobne ličinke 3. stupnja razvijaju se već za nekoliko sati unutar samog jajeta.

Naziv bolesti

Bolest uzrokovan oblicem *Enterobius vermicularis* naziva se enterobioza.

Invazijska doza i klinička slika bolesti

Ovaj oblik nije osobito opasan. U djece, ali i odraslih, ženke obliča koje izlaze iz crijeva uzrokuju upalu kože koja se očituje svrbežom i zacrvenjenjem. Opsežne invazije u djece popraćene su nesanicom, gubitkom težine, hiperaktivnošću, škruganjem Zubima, trbušnim bolovima i povraćanjem.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Dijagnoza se postavlja nalazom obliča ili jaja. Ženke obično izlaze iz tijela noću pa se mogu dokazati na području oko čmara. Iako rjeđe, oblići se mogu pronaći i u izmetu. Jaja na području oko čmara se mogu dokazati metodom ljepljive trake.

Učestalost bolesti

Enterobioza se smatra najučestalijom bolesti u svjetskim razmjerima. Procijenjeno je da je u SAD-u ovim oblicem zaraženo čak 40 milijuna ljudi. Bolest je česta i u Hrvatskoj.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Gravidne ženke mogu prodrijeti kroz crijevo te dospijeti u trbušnu šupljinu, biti opkoljene tkivom i samim time uzrokovati granulome uterusa i jajovoda. Mogu migrirati i do crvuljka i mokraćnog mjehura.

Rizična populacija

Bolest se češće javlja u male djece. Nalazi parazita i u ostalih ukućana su također česti.

Rizična hrana

Hrana koja je kontaminirana jajima podrijetlom iz zaražene osobe.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Kao i u slučajevima ostalih obliča, vrlo je teško pouzdano pretražiti hranu na prisutnost jaja.

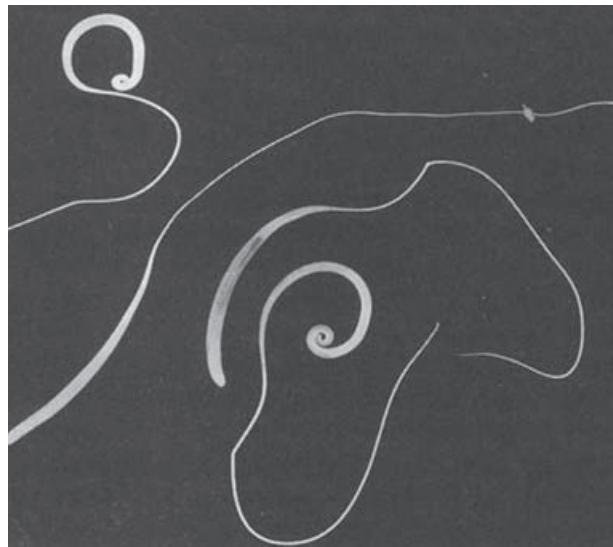
Smanjenje rizika

S obzirom na mogućnost kontaminacije hrane jajima uzrokovane rukovanjem zaražene osobe, neobično je važno strogo se pridržavati pravila redovitih pregleda.

Trichuris trichiura

Opis uzročnika

Oblik *Trichuris trichiura* (30-50 mm) je parazit koji nastanjuje debelo crijevo (**slika 16**). Svojim tankim prednjim dijelom duboko zadire u sluznicu. Ženke koje su duže od mužjaka, poštuju oko 5000 jaja dnevno. Jaja su tipičnog trihuridnog tipa. Trihuridni tip jaja odlikuje se tipičnim „limunastim“ oblikom s dobro izraženim „čepovima“ na oba pola. Jaja stolicom izlaze izvan organizma u neembrioniranom obliku. Embriонiraju relativno sporo u vlažnom i toploem tlu. Čovjek se invadira kada proguta embrionirana jaja putem hrane, vode ili zaprljanim rukama. Larve se iz jaja oslobađaju u tankom crijevu gdje ulaze u sluznicu. Tu se presvlače dva puta u razdoblju od tri do deset dana, nakon čega migriraju do debelog crijeva. Endogeni razvoj traje od trideset do devedeset dana.



Slika 16. Adulti oblića *T. trichiura* s karakterističnim tankim prednjim dijelom.

Naziv bolesti

Bolest uzrokovanu ovim oblicem naziva se trihurijaza.

Invazijska doza i klinička slika bolesti

Invazijska doza nije poznata. U većini slučajeva bolest prolazi bez značajnije kliničke manifestacije. Kroničnu invaziju prate tipični znakovi poput primjesa krvi u stolici, bolova u donjem dijelu trbuha i mučnine.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Jaja se mogu naći u stolici. Lako su prepoznatljiva po svom limunastom obliku.

Učestalost bolesti

Bolest je vrlo proširena u svijetu, osobito u tropskim područjima.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Bolest ima uglavnom kronični tijek. Anemija nastaje kao posljedica krvarenja uzrokovanog ličinkama koje prodiru u sluznicu, ali manjim dijelom može biti uzrokovanu i hematoftagnom navikom odraslih obliča. Opsežne invazije prate i sekundarne bakterijske infekcije koje nastaju na mjestu prodiranja ličinki. Trihurijazu često prati i invazija protozoonom *Entamoeba histolytica* te oblicima *Ascaris lumbricoides* i *Ancylostoma duodenale*.

Rizična populacija

Osobe koje se hrane nekuhanim povrćem i voćem koje se uzgajaju u tlu ili blizini tla gnojenog sadržajem iz septičkih jama.

Rizična hrana

Nedovoljno oprano povrće i voće uzgajano u tlu gnojenom sadržajem septičkih jama.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Jaja se mogu dokazati na površini namirnica. Potrebno je temeljito isprati sumnjivu hranu i u ispirku pronaći tipična jaja trihuridnog tipa.

Smanjenje rizika

Rizik se može smanjiti izbjegavanjem hrane (voća i povrća) koja je proizvedena u nehigijenskim uvjetima. U preventivi ove bolesti neobično je važna osobna higijena te zabrana korištenja sadržaja septičkih jama za gnojenje. Redoviti parazitološki pregledi osoba koje posluju hranom su također vrlo važni.

Oblići iz roda *Trichinella*

Opis uzročnika

Odrasli mužjaci trihinele dužine su 1–1,5 mm, a širine 0,03 mm, ženke su duge 2,5–3,5 mm, a široke 0,05 mm. Invazijska ličinka prvog stupnja je 1 mm duga i 0,03 mm široka (**slika 17**).

Nakon probave invadiranog mišićnog tkiva koje sadrži invazijsku ličinku, inkapsulirane larve trihinela oslobođaju se iz kapsule u želucu te prodrnu u mukozu tankog crijeva gdje sazrijevaju u adulte. Poslije oplodnje u tankom crijevu, ženke polazu novorođene ličinke koje se šire cirkulacijom po cijelom domaćinu i inkapsuliraju u poprečnoprugastoj muškulaturi (**slika 18**) gdje ponovno postaju invazivne, najranije petnaestog dana. Po ulasku u mišićnu stanicu ličinka u potpunosti mijenja funkciju mišićne stanice. Novonastali tip stanice naziva se stanica "njegovateljica". Ovako prilagođena invazijska ličinka može postojati u organizmu dok je nosioc živ i za to vrijeme zadržati sposobnost invazije novog nosioca. Nakon smrti nosioca trihinele mogu u lešini zadržati invazivnost određeno vrijeme što ovisi o uvjetima okoliša i vrsti trihinele.

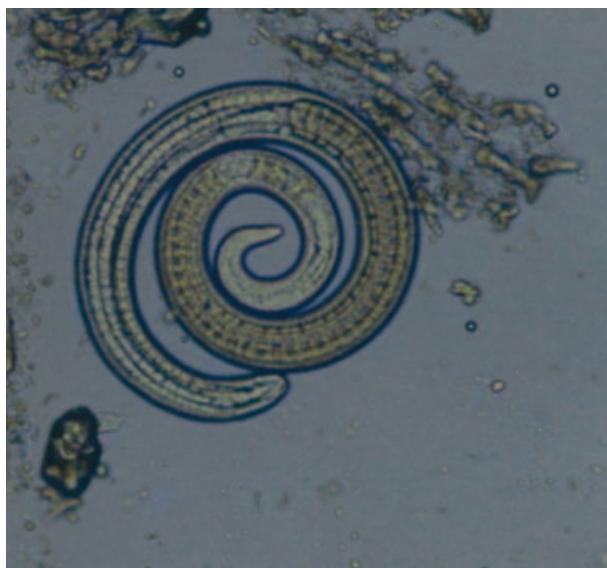
Oblići roda *Trichinella* jedini su do danas poznati oblići koji mogu invadirati gotovo sve vrste sisavca, ali i ptice i gmazove, a mogu se razvrstati u dvije skupine: one koje stvaraju kapsulu i one koje ne stvaraju kapsulu. U skupinu koje stvaraju kapsulu pripadaju sljedeće vrste: *Trichinella spiralis* (**slika 19**), *Trichinella nativa*, *Trichinella britovi*, *Trichinella murrelli* i *Trichinella nelsoni*. U skupinu bez kapsule svrstane su sljedeće vrste: *Trichinella pseudospiralis* (**slika 20**), *Trichinella papuae* i *Trichinella zimbabwensis*.

Naziv bolesti

Bolest koju uzrokuju nematodi iz roda *Trichinella* naziva se trihinelzoza.

Invazijska doza i klinička slika bolesti

Smatra se da invazijska doza dostačna da izazove klinički manifestnu trihinelzozu iznosi od 70 do 150 ličinki. Klinička slika



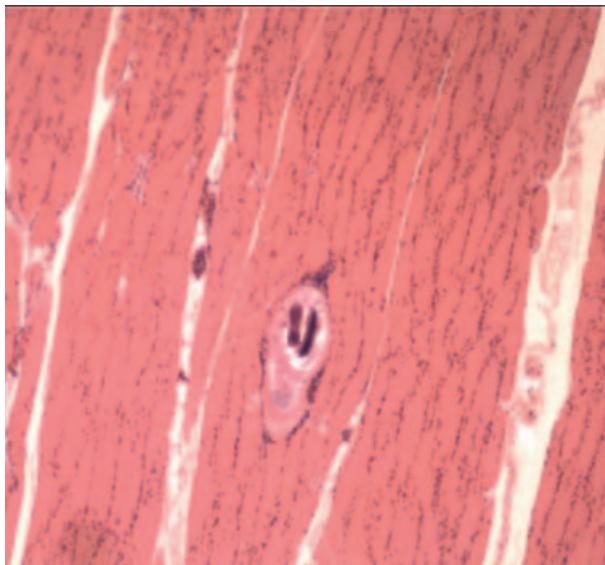
Slika 17. Ličinka oblića iz roda *Trichinella*.



Slika 18. Inkapsulirane ličinke oblića *T. spiralis* u poprečnoprugastoj muskulaturi.



Slika 20. Ličinka *T. pseudospiralis* u histološkom rezu.
(Fotografija A. Beck, dr.vet.med)



Slika 19. Ličinke *T. spiralis* u histološkom rezu.

može se po jačini simptoma podijeliti na tešku, umjereno tešku i blagu.

Klinički simptomi koji se najčešće pojavljuju u čovjeka su opća slabost, groznica s temperaturom 39-40°C kroz 8 do 10 dana, gastrointestinalni simptomi (proljev i abdominalna bol), zatim bol u mišićima, glavobolja, edem lica te eozinofilija. Simptomi se obično pojavljuju od 8 do 15 dana nakon konzumiranja invadiranog mesa, odnosno u razdoblju do 4 tjedna ukoliko se radi o blagom obliku. Jedino su eozinofilija i povećana razina mišićnih enzima (CPK i LDH) u krvi siguran znak bolesti.

Dijagnostika bolesti u čovjeka

Većina humanih oboljenja dijagnosticira se pojavom kliničkih znakova bolesti koju prati eozinofilija. Mišićni enzimi su povišeni u 75 – 90% slučajeva, no za sigurnu potvrdu kliničke

trihineloze nužno je izvršiti serološke pretrage za dokazivanje specifičnih protutijela IgG i IgM razreda imunoenzimskim testom ili imunoblotingom (Western blotting). U oba slučaja potrebno je koristiti visoko specifične ekskretorno-sekretorne (ES) antigene kako ne bi došlo do unakrižnih reakcija s drugim parazitima.

Paraziti se u mišićnom tkivu mogu dokazati i pretragom uzorka tkiva, za razlikovanje vrsta potrebno je analizirati nematode lančanom reakcijom polimeraze.

Učestalost bolesti

Trihinelozu predstavlja javnozdravstveni problem i pretpostavlja se da bi moglo biti invadirano oko deset milijuna ljudi. Od 1995. do 1997. godine Međunarodna komisija za trihinelozu (*International Commission on Trichinellosis*) zabilježila je više od 10000 slučajeva humane trihineloze, dok je u zemljama Europske unije u posljednjih 25 godina oboljelo preko 6000 ljudi. U Hrvatskoj je u vremenskom razdoblju od 1989. do 2003. godine ukupno oboljela 2301 osoba.

Tijek bolesti i moguće komplikacije

Bolest traje nekoliko mjeseci, a smatra se da ozdravljenje nastupa prestankom svih simptoma bolesti i mogućih komplikacija. Komplikacije su posljedica migracije ličinke što može rezultirati ozbiljnim oštećenjima tkiva, osobito kada ličinke migriraju u srce i mozak. Kardiovaskularne promjene najčešće su povezane s teškim i umjerenog teškim oblikom trihineloze, a manifestiraju se u vidu tahikardije i promjena u elektrokardiogramu. Kod kroničnih srčanih bolesnika može izazvati i smrt. Neurološke promjene se najčešće manifestiraju u vidu glavobolja ili znakovima meningitisa. Srčane i neurološke komplikacije mogu se pojaviti u razdoblju od trećeg do šestog tjedna.

Rizična populacija

Rizičnu populaciju predstavljaju svi oni koji jedu nepregledano meso, posebice ukoliko se konzumira sirovo ili nedovoljno termički obrađeno.

Rizična hrana

Glavni rizik za pojavu bolesti je konzumacija sirovog ili nedovoljno termički obrađenog mesa svinja, konja, medvjeda i divljači, ukoliko uzorci mišića ovih životinja nisu pregledani standardnim dijagnostičkim metodama (trihineloskopijom, umjetnom probavom). Posebnu opasnost predstavljaju kobasice i proizvodi od miješanog mljevenog mesa kao i suhomesnati proizvodi kod kojih nije sigurno porijeklo pa tako nije valjano pregledani.

Dokazivanje uzročnika u hrani

Pregled mesa domaćih svinja, divljih svinja, konja, ali i mesa svih drugih životinja koje mogu biti izvor invazije, je osnovna mjera za sprječavanje oboljenja ljudi. Dijagnosticiranje trihineloze provodi se različitim neposrednim i posrednim metodama. Prema Međunarodnom uredu za epizootije za prevenciju kliničke trihineloze u ljudi propisani su direktni testovi, trihineloskopija i umjetna probava, dok se prema novoj Europskoj direktivi preporuča metoda umjetne probave, a trihineloskopski se meso smije pregledavati do 31.12.2009.. Ovim direktnim metodama koje se provode nakon klanja (*post mortem*) dokazuju se invazijske inkapsulirane ili nekapsulirane ličinke u poprečno prugastoj muskulaturi predilekcijskih mišića. Umjetnom se probavom također mogu pretraživati i suhomesnati proizvodi.

Smanjenje rizika

Treba izbjegavati konzumiranje mesa podrijetlom od životinja koje nakon klanja ili odstrjela nisu pregledane na prisutnost trihinela (domaća svinja, konj, divlja svinja, jazavac, medvjed).

Tablica 6. Čimbenici koji utječu na rast i razmnožavanje parazita

Parazit	Okoliš	Toplina	Ph	Smrzavanje	Dezinficijens	Isušivanje	UV zračenje
<i>Cryptosporidium spp.</i>	Oociste (koje sadrže sporozoite) su vrlo otporne i preživljavaju čak 18 mjeseci u mračnim i vlažnim uvjetima okoliša. U izmetu goveda i vodi preživljavaju više od 6 mjeseci.	Temperatura od 71,7 °C tijekom 5, 10 i 15 sekundi uništava oociste u mljeku i vodi. Zagrijavanje pri temperaturi 64,2°C tijekom 2 minute u potpunosti uklanja invazijsku sposobnost oocisti unutar tekućine.	Manji pH u gaziranim pićima, smanjuje vitalnost oocisti za 85%.	Temperatura od -70°C u potpunosti uklanja invazijsku sposobnost. Invazijska sposobnost se postupno smanjuje pri temperaturi od -15°C do - 20°C.	Oociste su vrlo otporne prema dezinficijensima. Ozon je visoko učinkovit.	Isušivanje značajno utječe na preživljavanje oocisti, 95% biva uništeno pri sobnoj temperaturi tijekom 4 sata.	UV zrake uništavaju oociste u vodi.
<i>Giardia duodenalis</i>	Invazijske ciste (sadrže trofozoite) preživljavaju više od 2 tjedna u tamnom, vlažnom okolišu. Trofozoiti ne preživljavaju izvan organizma.	Zagrijavanje pri 71,7°C tijekom 15 sekundi uništiti će veliki broj cisti.	Ne postoje podaci.	Ciste uništava smrzavanje pri temperaturi -18°C, tijekom jednog sata.	Ciste su otporne prema dezinficijensima koji sadrže klor. Ciste su osjetljive prema dezinficijensima koji sadrže fenol.	Isušivanje smanjuje invazijsku sposobnost cisti.	Ne postoje podaci.

Tablica 7. Čimbenici koji utječu na rast i razmnožavanje parazita

Parazit	Okoliš	Toplina	Smrzavanje	Dezinficijens	Soljenje	Zračenje	Pritisak
<i>Toxoplasma gondii</i>	Sporulirane oociste u uvjetima okoliša preživljavaju 18 mjeseci. Pri temperaturi od 4°C preživljavaju 54 mjeseca, a na -10°C do 106 dana. Tkivne ciste preživljavaju na temperaturi hladnjaka u mljevenom mesu do 3 tjedna.	Temperatura od 67°C uništava tkivne ciste. Pri 50°C preživljavaju 10 minuta. Sporulirane oociste uništava zagrijavanje na 55-60° tijekom 1-2 minute.	Tkivne ciste preživljavaju smrzavanje pri -1 do -8°C 7 dana. Temperatura od -12° i niža ih uništava.	Oociste su vrlo otporne prema dezinficijensima.	6% NaCl uništava tkivne ciste pri temperaturi 4- 20°C. 3% NaCl uništava tkivne ciste za 3 do 7 dana.	Gama zračenje od 0,4 do 0,7 kGy uništava tkivne ciste. UV zrake jačine 1000 mJ/cm ² uništavaju oociste.	Pritisak od 300 Mpa uništava tkivne ciste.
<i>Trichinella spiralis</i>	Trihinele u mišićnom tkivu mogu preživjeti duže od jednog mjeseca.	Temperatura iznad 55°C uništava ličinke za 15 minuta, dok ih temperatura od 63°C uništava trenutno.	Temperatura od -25°C uništava ličinke u komadima mesa promjera 25 do 50 cm za 10 do 20 dana. Temperatura od -15°C uništava ličinke u komadima mesa istog promjera za 30 dana.	Slobodne trihinele su vrlo osjetljive na sve dezinficijense.	Soljenje nije pouzdano, a ovisi o koncentraciji soli i količini slobodne vode u mesu. U kobasicama promjera 15 cm ličinke ugibaju za najmanje 50 dana.	Gama zračenje od 0,15 kGy inaktivira ličinke.	Ne postoje podaci

Literatura:

Ajzenberg, D., N.Cogné, L.Paris, M.H.Bessières, P.Thulliez, D.Filisetti, H.Pelloux, P.Marty, and M.L.Dardé (2002): Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* isolates associated with human congenital toxoplasmosis, and correlation with clinical findings. *J Infect Dis* 186:684–689.

Appelbee, A.J., L.M.Frederick, T.L.Heitman, and M.E.Olson (2003): Prevalence and genotyping of *Giardia duodenalis* from beef calves in Alberta, Canada. *Vet Parasitol* 112:289–294.

Aspinall, T.V., D.Marlee, J.E.Hyde and P.F.G.Sims (2002): Prevalence of *Toxoplasma gondii* in commercial meat products as monitored by polymerase chain reaction - food for thought? *Int J Parasitol* 32:1193–1199.

Audicana, M.T., I.J.Anstegui, L.F.de Corres, and M.W.Kennedy (2002): *Anisakis simplex*: dangerous - dead and alive? *Trends Parasitol* 18:20–25.

Besser-Wiek, J.W., J.Forfang, C.W.Hedberg, J.A.Korlath, M.T.Osterholm, C.R.Sterling, and L.Garcia (1996): Foodborne outbreak of diarrheal illness associated with *Cryptosporidium parvum* — Minnesota, 1995. *Morbid Mortal Weekly Rep* 45:783–784.

Bhopale, G.M. (2003): Pathogenesis of toxoplasmosis. *Comp Immunol, Microbiol Infect Dis* 26:213–222.

Bruckner, D.A. (2000). Helminthic food-borne infections. *Clin Lab Med* 19:639–660.

Burnett, A.J., S.G.Shortt, J.Isaacrenton, A.King, D.Werker, and W.R.Bowie (1998). Multiple cases of acquired toxoplasmosis retinitis presenting in an outbreak. *Ophthalmology* 105:1032–1037.

Cabaret, J., S.Geerts, M.Madeline, C.Ballandonne and D.Barbier (2002): The use of urban sewage sludge on pastures: the cysticercosis threat. *Vet Res* 33: 575–597.

Christin (2007): Foodborne diseases Rev Med Suisse: 3(128):2262-5.

Dittmar, K. and W.R.Teegen (2003): The presence of *Fasciola hepatica* (Liver-fluke) in humans and cattle from a 4,500 year old archaeological site in the Saale-Unstrut Valley, Germany. Mem Inst Oswaldo Cruz 98(Suppl 1):141– 143.

Pigott, D.C. (2008): Foodborne illness. Emerg Med Clin North Am. 26:475-9

Richter, B. (2002): Medicinska parazitologija: udžbenik za studente medicine, šesto izmjenjeno i dopunjeno izdanje, Zagreb, MERKUR,ABD

Smith, H.V., S.M.Caccio, N.Cook, R.A.Nichols, Tait (2007): Cryptosporidium and Giardia as foodborne zoonoses. Vet Parasitol:149(1-2):29-40.

Smith,H.V., R.A. Nichols (2006): Zoonotic protozoa--food for thought. Parassitologia.;48(1-2):101-4.

Rječnik korištenih pojmova i kratica

adjuvans - tvar koja pomaže drugoj tvari kao pomoćno sredstvo

adsorpcija - sljubljivanje molekule neke tvari s površinom neke čvrste tvari

adult - odrasli oblik

aglutinacijski test - metoda za dokazivanje protutijela

aerobna bakterija - bakterija koja raste i razmnaža se u načnosti atmosferskog kisika

akutno - žestoko i naglo počinjanje nekog patološkog procesa koji obično ima kraći tijek

alimentarna infekcija - infekcija unošenjem uzročnika u organizam hranom

amebom - tumor crijeva izazvan amebama

anaerobna bakterija - bakterija koja raste i razmnaža se samo u okružju bez prisustva atmosferskog kisika

anafilaksija - teška alergijska reakcija preosjetljivosti (osip, otekuće, vaskularni kolaps, šok)

anemija - slabokrvnost

anoreksija - potpuni izostanak apetita

antacidi - lijekovi koji neutraliziraju želučanu kiselinu i smanjuju ph u želucu

antigen - svaka tvar kao makromolekula sa svojstvom da u prikladnim uvjetima u organizmu potakne tvorbu protutijela

AOAC - "Association of Analytical Communities," AOAC INTERNATIONAL - međunarodna organizacija koja se bavi validacijom i standardizacijom metoda

apatogenost - nemogućnost nekog mikroorganizma da nakon prodora, zadržavanja i razmnožavanja u organizmu uzrokuje bolest

appendicitis - upala crvuljka

apsces - nakupljanje gnoja u novostvorenoj šupljini u organizmu

artritis - upala zglobova

aseptični meningitis - virusna upala moždanih ovojnica

asimptomatska infekcija - infekcija koja se ne očituje kliničkim znakovima bolesti

asimptomatski kliconoša - osoba koja u sebi nosi uzročnika zarazne bolesti i izlučuje ga, ali ne pokazuje znakove bolesti

autoinvazija - ponovna invazija stadijem parazita koji se razvio unutar istog organizma

biopsija - uzimanje dijela kože ili organskog tkiva da bi se ono precizno pretražilo pod mikroskopom

bojenje po Gramu - način bojanja bakterija prema kojem se bakterije dijele u dvije velike skupine Gram pozitivne i Gram negativne bakterije

botrije - prijanjalke na glavi nekih trakovica

bradizoiti - razvojni oblici toksoplazme koji se sporo umnaju

cefiksim - vrsta cefalosporinskog antibiotika

celulitis - gnojna li negnojna upala rahlog vezivnog tkiva pod kožom

centrifugiranje u gradijentu - laboratorijska metoda izdvajanja

cerebrospinalni likvor - serozna tekućina subarahnoidnog prostora, u moždanim klijetkama i središnjem kanalu

cervix uteri - matrenični grljak

cista - invazijski oblik u nekih protozoa ili larvalni oblik nekih trakovica (npr. Echinococcus granulosus)

CsCl - cezijev klorid

dehelmintizacija - uništavanje oblića, trakovica i metilja nekim lijekom

dijareja - proljev

dizenterija - stanje koje je posljedica upale crijeva, posebice kolona, često se očituje krvavim proljevom

egzotoksin - tvari koje tvore bakterije i izlučuju u okoliš, a uzrokuju različita oštećenja u organizmu

ekskreti - izlučevine

ekstraintestinalni oblici - oblici koji se nalaze izvan crijeva

ELISA - imunoenzimni test (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)

encefalitis - upala mozga

encefalomijelitis - upala mozga i kralježnične moždine

endotoksin - dio membrane Gram negativnih bakterija, značajan za nastanak nekih bolesti

endemija - stalno pojavljivanje zarazne bolesti na ograničenom području koja nema tendenciju širenja

endokard - unutarnji sloj srčane šupljine (endotel i vezivnotkivno ležište na kojem je položen endotel)

endokarditis - upala endokarda

enteritis - upala tankog crijeva

enterokolitis - upala tankog i debelog crijeva

enterotoksemija - prisutnost toksina iz crijeva u krvi

epidemija - učestalo pojavljivanje neke bolesti uz povećani broj oboljelih osoba u određenom vremenu

epidemiološki čimbenici - čimbenici koji omogućavaju nastanak i širenje neke bolesti

epitop - najjednostavnija antigenska determinanta na antigenu

epizootija - učestala pojava neke bolesti životinja u nekom ograničenom vremenu i prostoru

fagocitne stanice - stanice imunosnog sustava sa svojstvom da uvlače strane čestice i mikrobe u sebe te ih razgrade i probave

fagotip - netaksonomski opći naziv za bakterijske sojeve ispod klasifikacijskih razina vrste i podvrste, koji su podložni lizi jednim ili nizom specifičnih faga

febrilitet - vrućica, povišena tjelesna temperatura

feces - izmet

fekalan - koji se odnosi na izmetine

flagele - organi za kretanje bakterija, nalik bičevima

flatulencija - učestalo ispuštanje crijevnih plinova

flotacija - metoda pretrage stolice tekućinama visoke specifične težine

gametogonija - spolna dioba kokcidija

gangrena - odumiranje tkiva na koje se nadovezuje bakterijska upala i truljenje tkiva

gastroenteritis - upala želuca i crijeva

germinacija - proklijavanje spora

GLISA - Gold Labelled Immuno Sorbent Assay; vrsta brze imunoenzimske pretrage	indirektna hemaglutinacija - metoda za dokazivanje protutijela
granulomatozan - koji je sastavljen od upalnog tkiva u obliku čvorića koji nastaju kao odgovor organizma na kroničnu upalu	infekcijska doza - minimalna količina mikroorganizma koja uzrokuje bolest
hemaglutinacija - međusobno sljepljivanje čestica (eritrocita) krvi	inkapsulirano - okruženo kapsulom
hematofagno - koje razgrađuje krvne stanice	inkubacija bolesti - vrijeme od ulaska patogenog mikroorganizma do pojave prvih kliničkih znakova
hepatitis - upala jetre	inokulacija - ubrizgavanje, unošenje
hepatociti - stanice jetre	intracelularan - onaj koji prodire unutar stanica domaćina
hepatomegalija - značajno povećana jetra	intrakranijalne kalcifikacije - ovapnjena unutar mozga
heterologan - koji ima različitu građu, podrijetlo ili položaj od drugih	invazija - ulazak parazita u organizam
hidrocefalus - nakupljanje tekućine u mozgu	izolat - dio odvojen od ostalog dijela
homologan - koji ima jednaku građu, podrijetlo ili položaj kao i drugi	izvor infekcije - zaraženi ljudi, životinje, bolesni, klicnoše, njihovi leševi, stvari, predmeti, tvari ili prostori odakle uzročnik zarazne bolesti prelazi posredno ili neposredno na nosioca
ileum - krajnji dio tankog crijeva	jejunum - (vito crijevo) srednji, najduži dio tankog crijeva
imunizacija - postupak za stjecanje otpornosti (imunitosti) na zarazu	kb - kilobaza
imuniziran - koji je stekao otpornost na zarazu	kDa - kilodalton
imunoenzimski test - metoda za dokazivanje protutijela	kokcidija - sitni protozoi iz roda emerija
imunofluorescencija - laboratorijska metoda kojom se dokazuju protutijela obilježena fluorescentnim bojama protiv nekog uzročnika bolesti	kolecistitis - upala žučnog mjehura
imunoglobulini - protutijela	kolitis - upala debelog crijeva
imunokompetentna - čiji je organizam s očuvanim imunitetom	kongenitalno - urođeno
imunokompromitiran - koji je oslabljenog imuniteta	kontaminacija - onečišćenje namirnica, materijala, okoliša ili živih bića neželjenim tvarima npr. mikroorganizmima, radioaktivnim tvarima, teškim metalima, otrovima i sl.
imunomagnetna separacija - laboratorijska metoda izdvajanja pojedinih čestica	konvalescentni serum - serum dobiven iz krvi pacijenata koji se oporavljaju od neke bolesti, a koristi se kao pasivna imunizacija za istu bolest
imunoprofilaksa - sprječavanje pojave i širenja bolesti imunizacijom	konvulzija - izmjenično žestoko grčenje i opuštanje mišića (najčešće epileptični napadaj)
imunosupresija - potiskivanje imunoreaktivnosti kemijskim, biološkim i fizikalnim sredstvima	koprološka pretraga - pretraga izmeta ili stolice
incidencija - broj novo zabilježenih slučajeva bolesti u određenom vremenskom razdoblju u promatranoj populaciji	koracidij - razvojni oblik trakovice
	lančana reakcija polimeraze - metoda kojom se relativno kratki dio DNA umnožava u veliki broj identičnih kopija, bez korištenja živog organizma

laparotomija - operativno otvaranje trbušne šupljine kroz trbušnu stjenku

larva - ličinka

letalitet - broj umrlih u odnosu na broj oboljelih

leukocit - bijela krvna stanica koja nastaje u leđnoj moždini i u limfatičnom tkivu

limfadenopatija - promijenjeni limfni čvorovi

LRP - lančana reakcija polimeraze

makrofag - stanica koja ima sposobnost diobe, pinocitoze i fagocitoze

meningitis - upala moždanih ovojnica

mezenterijalni limfni čvorovi - koji se nalaze u lepezastoj duplikaturi potrbušnice

migracija - „putovanje“ parazita po tijelu

mikroaerofilna bakterija - bakterija koja raste i razmnaža se pri smanjenoj količini atmosferskog kisika

monociti - vrsta bijelih krvnih stanica bitna u imunosti organizma

monoklonska protutijela - protutijela koja nastaju iz jednog kloga stanica

morbiditet - vidi pobol

mortalitet - vidi pomor

mukoza - sluznica

nekrotična upala - teška upala s posljedičnim odumiranjem zahvaćenog tkiva

nekroza - odumiranje tkiva

neonatalno - koji pripada novorođenom

neurotoksin - toksin koji djeluje na živčano tkivo, jedna vrsta egzotoksina

nm - nanometar

onkosfera - embrij u jajima trakovice

oocista - oplođena stanica kokcidija okružena čvrstim ovojnicama

paratenični domaćin - organizam u kojem se razvojni oblik ne mijenja već preživljava u prvobitnom obliku

parenhim - funkcionalno tkivo nekog organa

patogeneza - način nastanka neke bolesti

patogenost - svojstvo nekog mikroorganizma da nakon prodroga, zadržavanja i razmnožavanja u organizmu uzrokuje bolest

perforati - probiti

plerocerkoid - razvojni oblik trakovice

pobol - (morbiditet) broj oboljelih u odnosu na cijelokupnu populaciju

polimorfonuklearni leukociti - vrsta bijelih krvnih stanica bitna u imunosti organizma

pomor - (mortalitet) broj umrlih u odnosu na cijelokupnu populaciju

posrednik - organizam u kojem se parazit razvija no nikad ne dostigne spolnu zrelost

prevalencija - broj oboljelih od neke bolesti u određenoj populaciji u specifičnom vremenskom razdoblju

procerkoid - razvojni oblik trakovice

proteolitički - koji razgrađuje bjelančevine

protozoon - praživotinja, praživ

rehidracija - nadoknađivanje tekućine u dehidriranom organizmu

rekombinantno cjepivo - cjepivo u kojem je imunosna potruka nekog mikroorganizma ugrađena u DNK nekog drugog mikroorganizma koji služi samo kao prenositelj poruke

retinohoroiditis - upala žilnice i mrežnice oka

RNA - ribonukleinska kiselina

RT-PCR - lančana reakcija polimerazom uz prethodnu reverznu transkripciju

sedimentacija - taloženje

septikemija - bolest u kojoj uzročnik prodire u krvnu cirkulaciju i širi se organizmom domaćina

seroepidemiološko istraživanje - određivanje proširenosti bolesti u populaciji na osnovi dokaza serumskih specifičnih protutijela

serološka pretraga - metoda dijagnostike zarazne bolesti koja se temelji na dokazu specifičnih protutijela ili dokazu uzročnika pomoći specifičnih protutijela

serovar - naziv unutar vrste za bakterijske sojeve koji imaju različita antigena svojstva

shizogonija - nespolna faza diobe kokcidija koja se odvija unutar organizma

splenomegalija - značajno povećana slezna

spore - tvore je samo neki bakterijski rodovi kada su u nepovoljnim uvjetima, predstavljaju latentni oblik bakterija otporan na utjecaje okoliša

sporogonija - nespolna faza diobe kokcidija koja se odvija izvan organizma

sporozoiti - sastavni dio zrele oociste

sputum - isplijuvak

subakutno - tijek bolesti između akutnog i kroničnog

tahizoiti - razvojni oblici toksoplazme koji se brzo umnažaju te se mogu naći u bilo kojoj stanici s jezgrom

tenezam - bolno napinjanje na stolicu ili mokrenje bez rezultata

termolabilan - koji se mijenja pod utjecajem temperature

termostabilan - koji se ne mijenja pod utjecajem temperature

toksemija - otrovanje krvi, najčešće toksinima bakterija koje rastu na mjestu infekcije

toksogen - koji proizvodi otrov

transplacentalno - put prelaska kroz posteljicu

tripsin - enzim gušterače

trofozoit - razvojni oblik nekih protozoa u kojeg nema diobe

tropizam - (tkivni afinitet) sklonost mikroorganizama da se umnožavaju i očituju svoje djelovanje u određenim stanicama i tkivima

ulcerativni kolitis - čirava upala debelog crijeva

uremia - otrovanje sastojcima mokraće zbog njihova nedovoljna izlučivanja iz krvi zbog zatajenja bubrega

urin - mokraća

virulencija - stupanj patogenih svojstava mikroorganizma nužan za uzrokovanje bolesti

vomitus - povraćeni sadržaj

zoonoze - skupina zaraznih i nametničkih bolesti koje se prirodno prenose sa životinja kralježnjaka na čovjeka



Životopisi



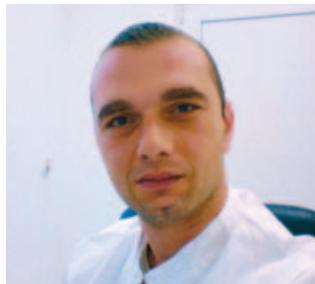
**Prof. dr. sc.
Albert Marinculić,
dr. vet. med.**

Rođen 1961. na Malom Lošinju. Diplomirao na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 1986. godine. Magistrirao i doktorirao na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu gdje i danas radi kao nastavnik na Zavodu za parazitologiju i invazijske bolesti s klinikom. U razdoblju od 1995. do 2003. obnaša dužnost predstojnika Zavoda za parazitologiju i invazijske bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. U razdoblju od 2003. do 2005. obnaša dužnost prodekana za nastavu na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Do sada se usavršavao u SAD-u, Italiji, Ujedinjenom Kraljevstvu i Njemačkoj. Već se niz godina bavi zoonozama uzrokovanim parazitima osobito trihinelozom u ljudi i životinja pa je i zbog toga 1996. izabran za stalnog člana Svjetskog povjerenstva za trihineluzu. Od 2007. obnaša dužnost potpredsjednika istog Povjerenstva. Član je i Nacionalnog povjerenstva za suzbijanje trihineloze te Nacionalnog povjerenstva za suzbijanje fascioze jelena. U 2007. je izabran za diplomata Europskog koledža veterinarske parazitologije. Od 2006. izabran je za predsjednika Znanstvenog odbora za biološke, kemijske i fizikalne opasnosti Hrvatske agencije za hranu. Bio je i predstavnik Hrvatske u Task Force Zoonoses Group u sklopu Europske agencije za hranu (EFSA-e). Član je i Europskog odbora za veterinarne u edukaciji, istraživanju i industriji. Predsjednik je Hrvatskog veterinarskog društva od 2002. godine i SouthEastern and Eastern European Parasitological Society od 2008. godine.



**Dr. sc. Boris Habrun,
dr. vet. med.,
znanstveni savjetnik**

Rođen 14.12.1966. u Zagrebu, gdje je završio osnovnu i srednju školu. Studij na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisao je 1985. godine. Tijekom studija je izradio rad pod naslovom "Topografska anatomija zatiljnog područja u psa kao podloga punkciji *liquor cerebrospinalis*", koji je bio nagrađen Svibanjskom nagradom Sveučilišta u Zagrebu 1990. godine. Diplomirao je 15. 07. 1993. U siječnju 1994. zaposlio se u Hrvatskom veterinarskom institutu kao znanstveni novak. Magistarski rad pod naslovom "Nalaz serumskih protutijela za bakteriju *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 2 u svinja primjenom imunoelizmognog testa i mikroaglutinacije u 2-merkaptoetanolu" obranio je 29.11.1996. U ožujku 1997. god. izabran je u istraživačko zvanje asistent. U siječnju 1998. boravio je mjesec dana radi usavršavanja u Institutu za veterinarsku bakteriologiju Sveučilišta u Bernu, Švicarska. Disertaciju pod naslovom "Imunogenost toksina ApxIVA i određivanje gena za egzotoksine bakterije *Actinobacillus pleuropneumoniae*" obranio je 07.04.1999., a iste je godine izabran u istraživačko zvanje viši asistent. U srpnju 2002. izabran je u zvanje znanstveni suradnik, u listopadu 2005. u zvanje viši znanstveni suradnik, a u zvanje znanstveni savjetnik u srpnju 2006. godine. U svibnju 2007. godine imenovan je predstojnikom Odjela za bakteriologiju i parazitologiju Hrvatskog veterinarskog instituta. Od 2006. godine član je Znanstvenog odbora za biološke, kemijske i fizikalne opasnosti u hrani Hrvatske agencije za hranu. Dosad je kao autor ili koautor objavio 56 znanstvenih i stručnih radova.



**Doc. dr. sc.
Ljubo Barbić,
dr. vet. med.**

Rođen je 29. studenog 1974. u Imotskom gdje je završio osnovnu školu i gimnaziju. Na Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisan je 1993. godine gdje diplomira 1999. godine. Po završetku studija odrađuje vježbenički staž, nakon čega je 2001. godine zaposlen u Zavodu za fiziologiju i radiobiologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu kao znanstveni novak. U Zavodu za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu zaposlen je 2002. godine gdje radi i danas u zvanju docenta. Doktorski poslijediplomski studij Veterinarske medicine smjer Mikrobiologija i epizootiologija završio je na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Disertaciju pod naslovom «Filogenetska i antigenska analiza virusa influence konja izdvojenih u Hrvatskoj» obranio je 5. listopada 2007. godine i time stekao akademski stupanj doktora znanosti iz znanstvenog područja biomedicine i zdravstva, polje veterinarska medicina. Znanstveno se usavršavao u domaćim i inozemnim ustanovama. Sudjeluje u rutinskom i znanstveno-istraživačkom radu Virusološkog laboratorija, kao i u izvedbi nastave u Zavodu za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Oženjen je i otac dvije kćeri.



**Dr. sc. Relja Beck,
dr. vet. med.**

Rođen 1. studenog 1972. u Zagrebu gdje je završio osnovnu i srednju školu. Potom je upisao studij na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu i diplomirao 2001. godine. Sljedeće godine se zapošljava na matičnom fakultetu, u Zavodu za parazitologiju i invazijske bolesti s klinikom u svojstvu znanstvenog novaka na projektu «Nova dijagnostike trihineloze svinja», a kasnije na projektu «Vakcinacijski potencijal oblića *T. nativa* u zaštiti svinja od trihineloze» na kojem radi i danas. Školovao se u Laboratoriju za parazitologiju Instituta za zaštitu potrošača u Berlinu, te je kao stipendist talijanske vlade nekoliko puta boravio u Istituto Superiore di Sanita u Rimu. Sudjelovao je na brojnim međunarodnim znanstveno-stručnim simpozijima u zemlji i inozemstvu kao predavač i pozvani predavač. Znanstveni interes obuhvaća molekularnu dijagnostiku i molakularnu epidemiologiju parazita, posebice zoonotskih protozooa i nematoda kao i bolesti koje se prenose vektorima. Objavio je veći broj znanstvenih i stručnih rada od kojih se 15 navodi u tercijarnim publikacijama.



HRVATSKA AGENCIJA ZA HRANU

Hrvatska agencija za hranu (HAH)
Ivana Gundulića 36b, 31000 Osijek

Web stranica: www.hah.hr

Besplatni telefon za potrošače: 0800 0025

E-mail: info@hah.hr

Fax:+385(0)31 21 49 01