

19. svibnja 2009.

**MIŠLJENJE HRVATSKE AGENCIJE ZA HRANU**

**O OPASNOSTI**

**zbog pojave biotoksina koji uzrokuju paralitičko trovanje**

**(eng. - Paralytic Shellfish Poisoning - PSP)**

**u Jadranskom moru**

Mišljenje su pripremili djelatnici Odjela analize rizika Hrvatske agencije za hranu

**Ključne riječi:** biotoksini, paralitičko trovanje, školjke

## **SADRŽAJ:**

1. POZADINA SLUČAJA / IDENTIFIKACIJA OPASNOSTI
2. KARAKTERIZACIJA OPASNOSTI
3. PROCJENA IZLOŽENOSTI
4. KARAKTERIZACIJA RIZIKA
5. DOKUMENTACIJA DOSTAVLJENA HAH-u
6. REFERENCE

## 1. POZADINA SLUČAJA / IDENTIFIKACIJA OPASNOSTI

Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja je dana 28. 04. 2009. godine izdalo priopćenje, temeljem čl. 10. Zakona o hrani, kako bi upozorila građanstvo i sve subjekte u poslovanju s hranom koji pripremaju i poslužuju morska jaja i druge morske organizme da ih nabavljaju isključivo na mjestima registriranim za prodaju proizvoda ribarstva, te da obrate pozornost da su zapakirani i propisno označeni.

Priopćenje je izdano zbog pozitivnog nalaza na PSP toksine u uzorkovanim plaštenjacima, a izdano se priopćenje ne odnosi na ribu već na žive bodljikaše, školjkaše, plaštenjake i morske puževe. Izlovno područje zapadne obale Istre zatvoreno je za izlov plaštenjaka. U drugim vrstama školjakaša sa tog područja nisu utvrđene povećane koncentracije PSP-a te ih je dozvoljeno izlovljavati.

Subjekti u poslovanju s hranom koji obavljaju djelatnost pakiranja i prerade školjakaša u obvezi su nabavljati školjkaše isključivo iz područja koja su pod monitoringom, tj. u kojima se obavlja analiza mora i školjakaša na prisustvo fitoplanktona i biotoksina. Samo za takve školjkaše može se garantirati zdravstvena ispravnost.

Temeljem zaprimljenih rezultata o pozitivnim nalazima na prisutnost biotoksina nadležni veterinarski inspektori izdali su rješenja o zabrani izlova/sakupljanja i prometa školjakaša iz proizvodnih područja u kojima je utvrđena povećana koncentracija biotoksina, o čemu su obaviješteni registrirani uzgajivači i otpremni centri na ugroženim područjima. Rješenja ostaju na snazi sve dok dva uzastopna nalaza u razmaku od 48 sati ne budu negativna. Izlovno područje Zapadne Istre zatvoreno je za izlov plaštenjaka (morsko jaje).

## 2. KARAKTERIZACIJA OPASNOSTI

Saxitoksini predstavljaju grupu toksina usko povezanih s tetrahydropurinima, a detektirani su u školjkama koje se hrane filtriranjem poput dagnji, srčanki, kapica, vongola i kamenica. Uglavnom ih proizvode planktonske alge dinoflagelati koji pripadaju rodu *Alexandrium* (*A. tamarensis*, *A. minutum*, *A. catanella*, *A. fraterculus*, *A. fundyense* i *A. coarctatum*).



Toksini se nakupljaju u probavnoj žlijezdi (hepatopankreasu) školjki koje se hrane filtriranjem vode. Saxitoksini su grupa toksina koji uzrokuju paralitičko trovanje školjkama u ljudi, karakterizirano simptomima koji mogu varirati od laganog osjećaja trnjenja ili otupljenosti oko usana i jezika, a koji se mogu pojaviti unutar nekoliko minuta nakon konzumiranja otrovne hrane uslijed lokalne apsorpcije otrova kroz bukalnu sluznicu, do smrtonosne respiratorne paralize. U fatalnim slučajevima, respiratorni arrest se pojavljuje 2 do 12 sati nakon konzumacije školjki kontaminiranih saxitoksinima. Identificirano je više od 30 različitih analoga saxitoksina, od kojih su STX, NeoSTX, GTX i dc-STX najtoksičniji.

Toksikološka baza podataka za saxitoksine je ograničena i i sadrži uglavnom podatke vezane za njihovu akutnu toksičnost. U svrhu monitoringa, uporaba tehnike tekućinske kromatografije (eng. High performance liquid chromatography – HPLC), primijenjeni su faktori toksične ekvivalencije kako bi se izrazili detektirani analozi kao saxitoksin ekvivalenti. Europska agencija za sigurnost hrane predložila je sljedeće faktore toksične ekvivalencije, bazirane na akutnom trovanju u miševa: STX = 1, NeoSTX = 1, GTX1 = 1, GTX2 = 0.4, GTX3 = 0.6, GTX4 = 0.7, GTX5 = 0.1, GTX6 = 0.1, C2 = 0.1, C4 = 0.1, dc-STX = 1, dc-NeoSTX = 0.4, dc GTX2 = 0.2, GTX3 = 0.4 i 11-hydroxy-STX = 0.3.

Prema dostupnim informacijama može se zaključiti da vezanje saxitoksina na naponom regulirane natrijeve kanale, s posljedičnom blokadom provodljivosti iona kroz navedene kanale, predstavlja glavni molekularni mehanizam djelovanja ove grupe toksina na živce i mišićna vlakna.

Budući da nema dostupnih podataka o kroničnim efektima saxitoksina na ljude ili životinje, tolerantni dnevni unos (TDI) nije niti određen. Obzirom na akutna trovanja saxitoksinima određena je akutna referentna doza (acute reference dose - ARfD). Iz dostupnih izvještaja intoksikacije u ljudi (više od 500 osoba) za najniže utvrđena razinu štetnog efekta (eng. lowest-observed-adverse-effect-level-LOAEL) može se odrediti 1.5 µg ekvivalenata saxitoksina po kilogramu tjelesne težine. Međutim, zbog toga što pojedine osobe nisu imale štetne reakcije kod većih unosa može se očekivati da je navedeni LOAEL blizu granice za pojavu reakcija kod osjetljivijih osoba. Zbog navedenog je odlučeno da je faktor 3 dostatan za pomicanje navedenog LOAEL-a prema procijenjenoj razini neprimijećenog štetnog efekta (eng. no-observed-adverse-effect level - NOAEL) od 0.5 µg ekvivalenata saxitoksina po kilogramu tjelesne težine. Dodatni faktor za varijacije među ljudima nije potreban zbog podataka koji su dobiveni od velikog broja oboljelih konzumenata, uključujući osjetljive pojedince. Zbog navedenih podataka, kao akutna referentna doza (ARfD) određeno je 0.5 µg ekvivalenata saxitoksina po kilogramu tjelesne težine.

### 3. PROCJENA IZLOŽENOSTI

Vrste algi koje proizvode saxitoksine pojavljuju se širom svijeta uključujući Mediteran i Jadransko more. Za morske biotoksine je poznato da pokazuju nehomogenu distribuciju glede vremena i zemljopisne lokacije, a podaci prikupljeni za biotoxine to potvrđuju. Pojava visokih razina biotoksina su obično vezane za ograničene vremenske periode na određenom zemljopisnom području. Statistički je utvrđeno da postoje razlike između pojedinih vrsti školjki i pojavljivanja saxitoksina.

Postoji i nepokretan oblik dinoflagelata, tzv. mirujuća cista. Mirujuće ciste potonu na dno mora gdje prezime. Kada nastanu povoljni uvjeti za rast ciste klijanju i inokuliraju vodu te počinju cvjetati. Nije predvidljivo kada će se dogoditi cvjetanje dinoflagelata. Klimatski uvjeti i uvjeti okoliša poput promjena u salinitetu vode, temperature vode, jačine sunčeve svjetlosti, povećanom udjelu nutrijenata mogu biti uzrok klijanju cisti u vegetativni stadij koji omogućuje brzu reprodukciju algi. Dodatno, hidrografski uvjeti mogu igrati važnu ulogu, posebice nazočnost termocline (gornjeg sloja morske vode koji se ne miješa s nižim slojevima). Omjer dušika i fosfora ima ulogu u proizvodnji toksina tijekom cvata (manji udio dušika reducira rast populacije i proizvodnju toksina dok manji udio fosfora reducira rast populacije ali povećava proizvodnju toksina). Toksičnost dinoflagelata zavisi od mješavine analoga saxitoksina čiji se sastav razlikuje zavisno od vrste alge i/ili regije u kojoj se cvjetanje događa.

Kako bi se ljudi zaštitili od akutne intoksikacije saxitoksinima, pri procjeni zdravstvenog rizika kod potrošnje školjki, važno je koristiti podatke obzirom na veličinu porcije a ne obzirom na dugotrajnost prosječne potrošnje. Podaci o potrošnji školjki su ograničeni, međutim, prema podacima dobivenim od pet zemalja članica EU utvrđeno je da 400 g mesa školjki predstavlja veliku porciju koja se treba koristiti pri akutnoj procjeni rizika morskih biotoksina. Četiristo gramska porcija mesa školjki sadrži saxitoksine u važećoj granici od 800 µg ekvivalenata saxitoksina po kilogramu mesa školjki što može rezultirati unosom od 320 µg toksina (ekvivalentno 5.3 µg/kg t.t. kod osoba od 60 kg). Ovaj je unos znatno viši od ARfD od 0.5 µg ekvivalenata saxitoksina po kilogramu tjelesne težine (ekvivalentno 30 µg ekvivalenata saxitoksina po porciji za osobe od 60 kg) i opasan je po zdravlje. Kako bi se izbjegao prijelaz ARfD od 0.5 µg ekvivalenata saxitoksina po kilogramu tjelesne težine, porcije od 400 g školjki ne bi smjele sadržavati više od 30 µg ekvivalenata saxitoksina što odgovara 75 µg ekvivalenata saxitoksina po kilogramu mesa školjki.



Gubitak vode tijekom kućne obrade školjki (kuhanje, kuhanje na pari) uzrokovat će migraciju saxitoksina iz mesa školjki u tekućinu u kojoj se one kuhaju. Saxitoksini u školjkama su stabilni na temperaturama uobičajenog kuhanja i kuhanja na pari (oko 100°C). industrijska obrada, poput obrade u autoklaviranju na visokim temperaturama (115-120°C), može dovesti do redukcije koncentracije saxitoksina u mesu školjki do 90%.

Biološki pokus na miševima i HPLC su službeno propisane metode za detekciju saxitoksina

Prema odredbama Pravilnika o higijeni hrane životinjskog podrijetla (NN 99/07) živi školjkaši ne smiju sadržavati morske biotoksine u ukupnim količinama (mjereno u cijelom tijelu ili pojedinačnim jestivim dijelovima) koje prekoračuju sljedeće granice: za biotoksin koji uzrokuje paralizu (Paralytic Shellfish Poison – PSP): 800 mikrograma na kilogram. Stoga će izloženost osobe od 60 kg, koja pojede porciju od 400 g biti maksimalno 5.3 µg/kg tt.

### Prehrambene navike

Prema podacima Državnog zavoda za statistiku može se vidjeti godišnja potrošnja ribe i njenih prerađevina po glavi stanovnika.

Hrana i piće	Mjerna jedinica	2001.	2002.	2003.	2004.	2005.	2006.	2007.
<b>Riba i prerađevine</b>								
Morska i slatkovodna riba	kg	8,33	6,86	6,34	6,59	7,84	7,19	7,83
Plodovi mora	kg	1,36	1,08	1,00	0,89	1,22	0,85	1,10
Sušena, dimljena i usoljena riba	kg	0,05	0,06	0,08	0,08	0,09	0,05	0,04
Konzervirana i prerađena riba	kg	0,67	0,76	0,66	0,73	0,84	0,96	0,82

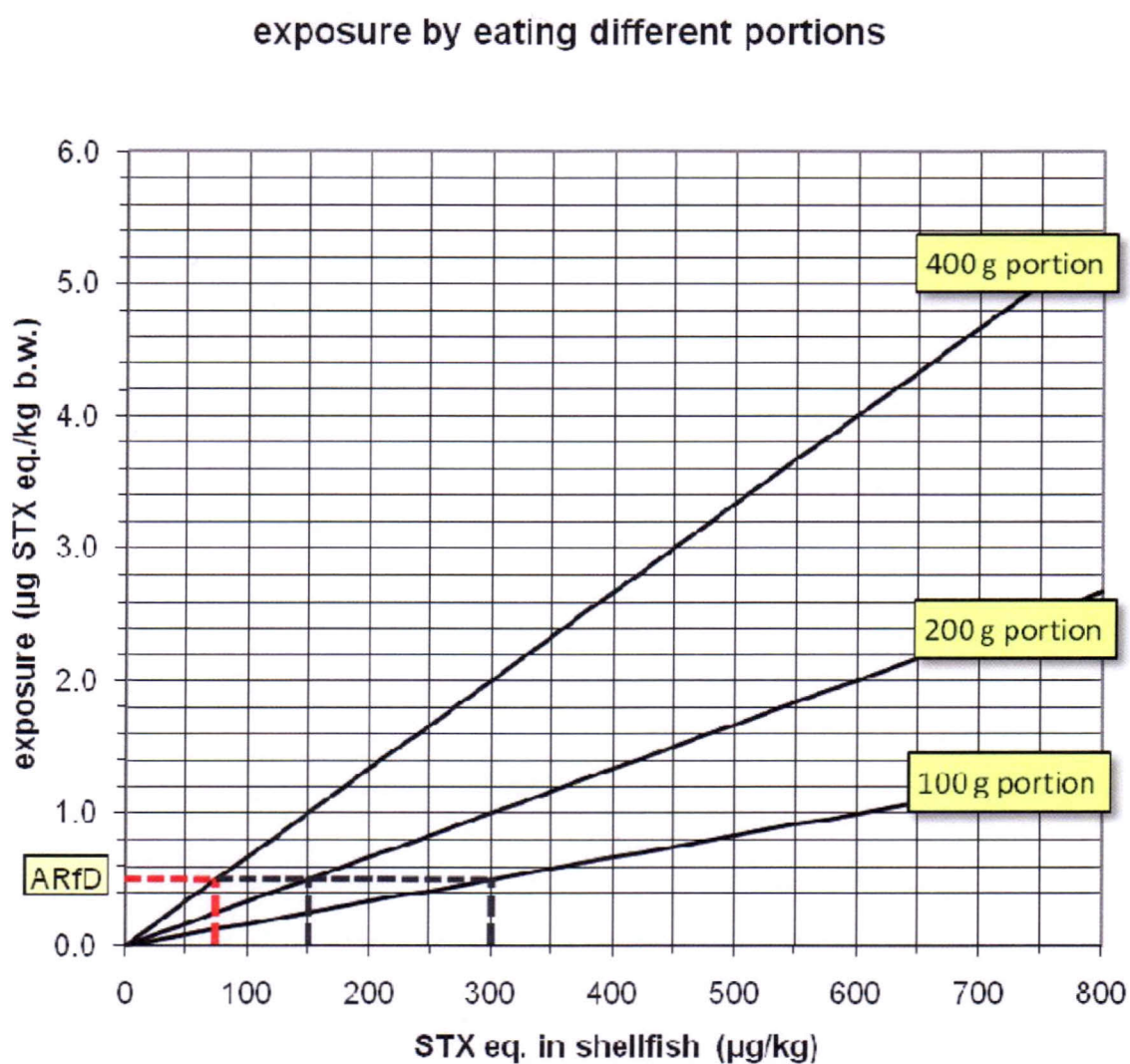
## 4. KARAKTERIZACIJA RIZIKA

Budući da saxitoksini imaju akutne toksične učinke, za procjenu zdravstvenih rizika za potrošača treba uzimati u obzir veličinu porcije a ne dugotrajnost prosječne konzumacije. Četiristo gramske porcije su utvrđene, s 95 postotnom sigurnošću, kao one koje treba uzimati u obzir kod procjene akutna izloženosti.

Konzumiranje porcije od 400 g mesa školjki koje sadrži saxitoksine, uz aktualni limit od 800  $\mu\text{g}$  ekvivalenata saxitoksina/kg mesa školjki, rezultirat će unosom od 320  $\mu\text{g}$  toksina (ekvivalentno 5.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  tt kod osoba od 60 kg). Ovaj je unos značajno veći od ARfD od 0.5  $\mu\text{g}$  ekvivalenata saxitoksina/kg tt.

Jačina intoksikacije, kako je prikazano u **grafikonu 1**, je vezana uz veličinu porcije, koncentraciju saxitoksina u mesu školjki vezano uz razinu ARfD-a.

**Grafikon 1. izloženost obzirom na veličinu porcije**





Budući da postoje značajne razlike u profilu toksina, različitom broju determiniranih analoga, različitim limitima kvantifikacije kod analitičkih metoda koje se primjenjuju u različitim Europskim zemljama te da postoji velik broj uzoraka koje nije moguće kvantificirati zaključak je da postoji previše nesigurnosti za pouzdanu i reprezentativnu procjenu izloženosti saxitoksinima u EU zemljama. Dodatno, razlike u kiselinskim uvjetima koji se koriste tijekom faze ekstrakcije kod različitih metoda može dovesti do razlika u konverziji analoga saxitoksina niske toksičnosti u analoge saxitoksina visoke toksičnosti. Zbog navedenog je teško komentirati rizike povezane s potrošnjom školjki koje se već nalaze na tržištu.

### **Praćenje kakvoće mora i školjkaša**

Prema Planu praćenja kakvoće mora i školjkaša na proizvodnim područjima i područjima za ponovno polaganje živih školjkaša za 2009. godinu za područje Zapadne Istre predviđeni su parametri i plan uzorkovanja:

#### **a) morska voda učestalost**

- fitoplanktonski sastav mjesečno
- temperatura morske vode mjesečno
- salinitet mjesečno
- otopljeni kisik mjesečno

#### **b) meso školjkaša**

- PSP tjedno

## **ZAKLJUČAK**

- Poboljšati sustav za prijavu pojave paralitičkog trovanja školjkama kako bi se primjerenije moglo pratiti stanje glede intoksikacija uzrokovanih biotoksinima iz školjki.
- Osigurati detaljna izvješća o potrošnji školjki te pouzdane podatke sadržaju toksina kod pojave intoksikacije s PSP toksinima kako bi se smanjila nesigurnost kod ARfD za saxitoksine
- Neophodni toksikološki podaci potrebni za utvrđivanje faktora toksične ekvivalencije (TEF) za one analoge saxitoksina koji se najčešće pojavljuju.
- Upotpunjavanje podataka o razinama saxitoksina vezano uz efekte u procesu prerade
- Proširenje baze podataka o potrošnji školjki (veličina porcije, frekvencija i različiti tipovi školjki)

### **Mogući dionici sustava:**

- Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split (Laboratorij za plankton i toksičnost školjakaša – voditeljica laboratorija prof. dr. sc. Ivona Marasović znanstvena savjetnica)
- Agencija za zaštitu okoliša
- Uprava za veterinarstvo
- Uprava za veterinarske inspekcije
- Veterinarski fakultet

## 5. DOKUMENTACIJA

- priopćenje Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvitka: Pojava biotoksina na Jadranu <http://www.mps.hr/pr/priopcenje.asp?id=1439>

## 6. REFERENCE

1. Marine biotoxins, FAO FOOD AND NUTRITION PAPER 80  
<http://www.fao.org/docrep/007/y5486e/y5486e00.HTM>
2. EFSA: Marine **biotoxins** in shellfish – Saxitoxin group  
[http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa\\_locale-1178620753812\\_1211902452476.htm](http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1211902452476.htm)
3. Biotoxins, aquatic (marine and freshwater); (Environmental Health Criteria 37, 1984)  
<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc37.htm>
4. Pravilnik o higijeni hrane životinjskog podrijetla (NN 99/07)
5. Pravilnik o službenim kontrolama hrane životinjskog podrijetla (NN 99/07)
6. Plan praćenja kakvoće mora i školjkaša na proizvodnim područjima i područjima za ponovno polaganje živih školjkaša za 2009. godinu