

PURIFIKACIJA ŠKOLJKAŠA

A. Bratoš

Sažetak

Onečišćenje morskog okoliša sve više utječe na kvalitetu i sigurnost hrane iz mora, osobito one iz priobalnog područja. Porast obalnih naselja i svih uz to vezanih aktivnosti uzrokuje sve više poteškoća s onečišćenjem školjkaša. Osobito su za zdravlje ljudi opasni školjkaši koji se konzumiraju sirovi. Naime, toplinska obrada namirnica rezultira inaktivacijom potencijalno patogenih tvari i time povećava stupanj sigurnosti konzumacije, pa se pokazala nužnost razvoja metoda za pročišćavanje školjkaša koji se konzumiraju nedovoljno toplinski obrađeni. Rezultat je razvoj purifikacije, dinamičkoga procesa koji, koristeći se fiziologijom organizma, omogućuje školjkašima izbacivanje nepoželjnih tvari u spremnike čiste vode i time smanjivanje razine patogena.

Ključne riječi: purifikacija, uzgoj školjkaša

UVOD

Zarazne bolesti vezane uz konzumaciju školjkaša poznate su više od 100 godina (Richards, 1985, 1988). Epidemije kolere i crijevnog tifusa potkraj 19. stoljeća povezane su s onečišćenim izvorima vode i lošim sanitarnim uvjetima, a njihove značajne posljedice utjecale su na razvoj mikrobiologije i metoda za pronalaženje ovih bakterija.

Dugo su se bolesti uzrokovane zaraženim školjkašima povezivale samo s bakterijama, pa je razvoj purifikacijskih metoda bio najuže povezan s mikrobiološkim tehnikama. No, školjkaši su potencijalni prijenosnici i drugih štetnih čimbenika kao što su potencijalno toksične vrste alga koje su uobičajene u estuarijima, ili npr. humanih enterovirusa. Metode za identifikaciju ovakvih čimbenika još su uvijek nedovoljno razvijene, a cilj je utvrđivanje njihove raspodjele u okolišu, kao i putova zaraze školjkaša (Jackson i Ogburn, 1999).

Ana Bratoš, Sveučilište u Dubrovniku, Odjel akvakulture, Ćira Carića 4, 20000 Dubrovnik, HR, e-mail: abratos@vdu.hr

Razvoj istraživanja sanitacije školjkaša tradicionalno se temelji na fekalnim koliformima kao općem indikatoru sanitarne kvalitete vode i školjkaša. Interakcija fekalnih koliforma s okolišem i školjkašima znatno se razlikuje od interakcija mikroba koji se prirodno pojavljuju u morskom okolišu, npr. *Vibrio* sp. Različiti odnos fekalnih koliforma i enterovirusa osnovni je problem u razvoju procedura i postupaka u vezi s monitoringom i sanitacijom školjkaša. Zasad je proces purifikacije učinkovit za školjkaše umjereno kontaminirane bakterijama fekalnog porijekla, a uspješnost uklanjanja fekalnih koliforma, kao što je *E. coli*, mjera je učinkovitosti toga procesa. Uklanjanje drugih nepoželjnih agenasa nije dosad uzimano u temeljito razmatranje, iako postoji cijeli niz bolesti koje se povezuju s konzumacijom školjkaša.

RIZICI OD KONZUMACIJE ŠKOLJKAŠA

U Velikoj je Britaniji od godine 1981. do 1988. zabilježeno gotovo 80 pojava bolesti povezanih sa školjkašima, što je više nego u prethodnih 40 godina (West, 1991).

U SAD-u je od 1973. do 1987. utvrđeno da su školjkaši prijenosnici u 6% slučajeva (213 oboljelih) pojave bolesti vezanih uz konzumaciju hrane (Bean i Griffin, 1990), a od 1993. od 1997. FDA navodi podatke o godišnjem broju od 108 oboljelih 1997. do 657 oboljelih 1993.

Od 1993. do 1998. godine u 42 europske zemlje, zabilježen je 1.201 slučaj bolesti vezanih uz morsku hranu, što je 5,3% od ukupnoga broja epidemija uzrokovanih hranom. Isti podaci govore o osam izbijanja epidemija u Italiji 1998. godine, 418 u Španjolskoj i 251 u Francuskoj od godine 1993. do 1998., dok se u Hrvatskoj u istom razdoblju bilježi osam epidemija ili 2,7% od ukupnoga broja hranom uzrokovanih izbijanja bolesti (FAO/WHO, 2001).

Pri analizi ovih podataka treba uzeti u obzir neredovitu prijavu bolesti vezanih s konzumacijom hrane i njihovo često neutvrđeno porijeklo, kao i gotovo sigurno bilježenje bolesti vezanih uz školjkaše zbog ozbiljnih simptoma koje uzrokuju. Onečišćenje vode i školjkaša fekalnim materijalom uzrokuje rizik za potrošače, koji najčešće rezultira simptomima gastroenteritisa uzrokovanog *virusom Norwalk* (Ahmed, 1992). Također postoji rizik povezan s nepoznatim bakterijama i praživotinjama, a znatna su prijetnja javnom zdravlju toksične fitoplanktonske cvatnje, koje često proizvode smrtonosne spojeve (Hall, 1991).

Sve je ovo uzrokovalo utvrđivanje strategija za provođenje zdravstvenih mjera, različitih načina kontrole i suzbijanja bolesti u uzgojnim područjima u svijetu. Dosadašnji sustavi kategorizacije područja uzgoja školjkaša temelje se na rezultatima ispitivanja voda u SAD-u (NSSP, 1990a i 1990b) ili na rezultatima ispitivanja tkiva u Europi (EC Direktiva 91/492) i kombiniraju se s procesima purifikacije. Tako se u Europi uzgojna područja dijele na zonu A i B. Školjkaši iz zone A moraju zadovoljavati stroge higijensko-sanitarne

standarde da bi se mogle proglasiti mikrobiološki i kemijski »zdravima« i kao takve pogodnima za uzgoj školjkaša koji se mogu izravno ili preko otpremnih centara distribuirati na tržište. Uzgojne B–zone sadrže više mikroorganizama i kemijskih tvari nego što to dopušta Direktiva 91/492 pa je školjkaše nužno pročistiti da bi razina nepoželjnih tvari bila unutar propisima dopuštenih granica, te da bi se zadovoljili zahtjevi tržišta. To se postiže u purifikacijskim centrima koje mora priznati Europska unija prema Odluci 531/92.

Unatoč činjenici da se hrvatska uzgajališta školjkaša prema europskim standardima nalaze u A–zonama, Hrvatska se ne ubraja u zemlje kojima je omogućen izvoz školjkaša u EU. Da bi se u budućnosti omogućio izvoz na europsko tržište, hrvatski se propisi nastoje uskladiti s europskima. Tako na temelju Pravilnika o veterinarskozdravstvenim uvjetima za izlov, uzgoj, pročišćavanje i stavljanje u promet živih školjaka (N. N., 129/99; N. N., 16/2000), Uprava za veterinarstvo Ministarstva poljoprivrede i šumarstva propisuje godišnji plan praćenja kvalitete najznačajnijih hrvatskih uzgajališta školjkaša u području Linskog kanala, ušća rijeke Krke, Malostonskog zaljeva, Vabriga i Novigradskog mora. Plan obuhvaća kontrolu morske vode i mesa školjkaša u svrhu provjere mikrobiološke kvalitete školjkaša, kao i postojanja biotoksina i štetnih kemijskih tvari u tkivu. Također se provjerava postojanje toksičnih fitoplanktonskih vrsta u području uzgoja (MPŠ, 2003).

Postojeći propisi u drugim dijelovima svijeta uglavnom se oslanjaju na europske i američke.

PROCES PURIFIKACIJE

U procesima purifikacije iskorištavaju se prirodne fiziološke funkcije probavnog sustava školjkaša. Purificiraju se žive životinje i uspjeh procesa u velikoj mjeri ovisi o njihovu dobrom stanju, jer se iskorištavaju fiziološki procesi tijekom probave i ostalih prehranbenih aktivnosti školjkaša. Kamenice se, kao i ostali školjkaši, hrane filtriranjem tako da se škrge, osim za disanje, rabe i za prehranu. Mikroalge, detritus, zooplankton, bakterije, praživotinje, organske i anorganske čestice potencijalni su izvor hrane za odrasle jedinke, a raspršena organska tvar za ličinke. Hrana se odabire u prvom redu prema veličini, potom odgovarajuće čestice kroz usta odlaze u probavni sustav, a neodgovarajuće se odbacuju kao pseudofeces. Odrasle kamenice najčešće konzumiraju fitoplanktonske organizme promjera 3–24 μm (Newell i Langdon, 1996).

Osim količine i veličine hrane, na prehranu kamenica utječu i strujanje vode, temperatura, salinitet, zamućenost i količina otopljenog kisika (Newell i Langdon, 1996).

Školjkaši se mogu kontaminirati prigodom prikupljanja, purifikacije, prijevoza, obrade i konzumacije, ali su najčešća otrovanja prouzročena kontaminacijom za vrijeme uzgoja u vodi onečišćenoj fekalijama (Jackson i Ogburn, 1999).

Školjkaši se najčešće uzgajaju u poluzatvorenim sustavima, koji osiguravaju dovoljnu količinu hrane. Filtrirajući vodu u kojoj žive, skupljaju čestice mikroorganizama pa, ako u okolišu postoje patogeni čimbenici, školjkaši su im izloženi. Rizik za zdravlje potrošača ovisi o vrsti patogenog čimbenika, razini kontaminacije, vremenu koje protekne od kontaminacije do prikupljanja školjkaša te o učinkovitosti postupaka kao što je purifikacija, koja se primjenjuje radi uklanjanja onečišćivača nakon prikupljanja.

Nakon prikupljanja na mjestu uzgoja slijedi prijevoz do postrojenja za čišćenje, razvrstavanje i hlađenje. Pritom se ljuštura školjkaša može oštetiti tako da isteče tekućina iz plaštane šupljine, a mogući su i drugi oblici oštećenja zbog dulje emerzije, osobito pri višim temperaturama. Poznato je da ohlađene kamenice tijekom prva četiri sata purifikacijskoga procesa filtriraju znatno manju količinu vode od neohlađenih, ali nakon toga nije utvrđena razlika. Oštećenja obično rezultiraju smanjenom sposobnošću filtriranja, što kao posljedicu ima smanjenu učinkovitost procesa purifikacije. Nedovoljno čišćenje može biti uzrok povećanja kontaminacije za vrijeme purifikacije, kao i zamućenja u purifikacijskom sustavu, što smanjuje njegovu učinkovitost (posebice ako se za dezinfekciju rabi UV zračenje), (Jackson i Ogburn, 1999).

Čestice koje školjkaši progutaju probave se, izdvajaju i nakupljaju u tkivu ili se izlučuju izmetom. Uobičajeno izmet sadrži mikroorganizme prisutne u probavnom sustavu školjkaša.

Purifikacija je kontrolirani proces koji se temelji na mogućnosti pročišćavanja sadržaja probavnog sustava školjkaša filtriranjem čiste vode. Za vrijeme procesa purifikacije izmet se skuplja na dnu spremnika i tako je odijeljen od vode koja recirkulira. Purifikacija je izuzetno učinkovita za uklanjanje fekalnih bakterija kao što je *Escherichia coli* (Souness i Fleet, 1991), a nešto manje za *Vibrio spp.* (Tamplin i Capers, 1992) i *Salmonella spp.* (Son i Fleet, 1980). Laboratorijski su pokusi pokazali učinkovitost u uklanjanju poliovirusa (Metkalf i sur., 1979), iako je moguće nalaženje manje koncentracije nakon purifikacije (Eyles, 1980). Poznati su slučajevi virusnog hepatitisa i gastroenteritisa u Velikoj Britaniji koji se pripisuju purificiranim školjkašima iz vrlo onečišćenih voda (USFDA, 1983), a zabilježeni su prije primjene strogih propisa iz programa Europske unije.

Učinkovitost uklanjanja mikroorganizama u procesu purifikacije ovisi o mnogim čimbenicima. Školjkaši moraju biti zdravi da bi mogli normalno filtrirati vodu i tako uklanjati mikroorganizme iz svojega probavnog sustava. Normalno filtriranje ovisi o ekološkim čimbenicima koji su specifični za svaku vrstu, pa može varirati radi prilagodbe na promjenu uvjeta. Vrijeme potrebno za uklanjanje mikroorganizama mijenja se ovisno o njihovoj vrsti, kao i o vrsti domaćina.

Nakon procesa purifikacije, a prije puštanja u promet, školjkaši se mogu dalje obrađivati u za to predviđenim postrojenjima. Prodaju se uglavnom u ljušturama i živi, a najčešće su čvrsto zatvoreni, čime je smanjena mogućnost kontaminacije. Vrijeme preživljenja živoga školjkaša izvan vode ovisi o vrsti.

Radi sprječavanja razmnožavanja bakterija, školjkaši se čuvaju na nižoj temperaturi, ali ta metoda nije pogodna za neke vrste školjkaša (Souness i sur., 1979). Prije prodaje školjkaši se čiste, razvrstavaju, pakiraju i hlade, a u nekim slučajevima i otvaraju. Uobičajeno je da se neposredno prije prodaje otvoreni školjkaši stavljaju na led, pri čemu je moguć porast temperature koji znači povoljne uvjete za razmnožavanje bakterija. Velika je važnost čišćenja i uklanjanja obraštajnih organizama koji mogu utjecati na kakvoću proizvoda. Prigodom obrade, radnici mogu kontaminirati hranu zbog neodržavanja higijenskih uvjeta (Jackson i Ogburn, 1999).

Kamenice se najčešće konzumiraju prijesne s cijelim probavnim sustavom (i njegovim sadržajem). Lagana toplinska obrada kojoj se podvrgavaju neki školjkaši prije konzumacije nije dovoljna za inaktivaciju većine mikroorganizama pa je značenje purifikacije očito (Morse i sur., 1986).

Načela na kojima se temelji purifikacija razmjerno su jednostavna, ali na učinkovitost utječu mnogi parametri, kao što su konstrukcija uređaja i uvjeti u kojima se upotrebljava, količina taloga u vodi, početna opterećenost patogenima, vrsta patogena, fizičko stanje i vrsta školjkaša.

SUSTAVI ZA PURIFIKACIJU

Za procese purifikacije kamenica postoje različiti sustavi, a najčešće se rabe tzv. *fish-box*, *tray* i *pool* sustavi za purifikaciju (Ayers, 1991). Sustav *Fish-box* sastoji se od više naslaganih polietilenskih posuda. Voda se pumpa u najgornju posudu i filtrira kroz dna svih posuda. Potom se voda pumpa u gornje dijelove posuda, pri čemu prolazi kroz jedinicu za dezinfekciju ultraljubičastim zračenjem. Ovakav sustav koristi se minimalnim volumenom vode i istodobno purificira razmjerno velik broj životinja.

Sustav *Tray* za purifikaciju sastoji se od više plitkih posuda (plitica) složenih jedna na drugu. Voda se pumpa izravno u svaku posudu ili se cijedi s vrha na dno sustava.

Pool sustav za purifikaciju sastoji se od velikoga kosog spremnika. U njega se stavljaju košare s kamenicama u jednom ili više slojeva, a odvajaju se rebrastim pločama pleksistakla. Voda se pumpa u jedan kraj spremnika i gravitacijski se cijedi preko brane na drugom kraju da bi se recirkulirala nakon dezinfekcije.

Cilj je purifikacije inaktivacija mikroorganizama u sustavu za dezinfekciju, a može se temeljiti na djelovanju ultraljubičastoga zračenja, ozona, klora ili joda (Otwell i sur., 1991).

Dezinfekcija UV zračenjem temelji se na djelovanju na DNA mikroorganizma (Bitton, 1994), što rezultira prestankom rasta i smrću stanice. Ova je metoda povoljna za inaktivaciju različitih vrsta virusa, bakterija i prazivotinja (Campbell i sur., 1995; Lazárova i sur., 1999; Liltved i sur., 1995; Severin i sur., 1983; Sommer i sur., 1995). Učinkovitost UV zračenja ovisi

o dozi zračenja koju proizvodi jedinica za zračenje (UV svjetiljka), protoku vode i prodiranju UV svjetla kroz vodu. Dok prva dva parametra ovise o upotrijebljenim instrumentima, prodor UV zraka kroz vodu ovisi o raspršenim česticama, boji vode, otopljenim solima, a i sami školjkaši mogu utjecati na zamućenost vode ako su nedovoljno očišćeni ili se mriješte za vrijeme purifikacije. Mutna voda smanjuje prodor UV zraka kroz vodu, čime se smanjuje učinkovitost inaktivacije mikroorganizama za vrijeme purifikacije (Sounnes i Fleet, 1991), pa je očita nužnost svodenja zamućenosti na najmanju moguću mjeru. Zbog neškodljivosti UV zračenje ima široku primjenu u purifikacijskim postrojenjima u Velikoj Britaniji, Danskoj, Sjedinjenim Državama, Australiji, na Novom Zelandu i dr.

Ozon je snažan oksidans koji reagira s organskom tvari i tako inaktivira mikroorganizme. Učinkovit je za viruse, bakterije, alge i praživotinje u slatkoj vodi (Davis i Arnold, 1997). U slanoj vodi bromidi reduciraju ozon pa mu se skraćuje poluživot (Haag i Hoigne, 1984). Proizvedeni je brom također dobar dezinficijens i poboljšava učinak ozona u morskim sustavima (Crnčević, 2002). Ozon je pri sobnoj temperaturi plin i proizvodi se, obično, s pomoću električne struje na mjestu dezinfekcije. Upotreba ozona znatno je složenija i skuplja od UV zračenja, u velikoj mjeri ovisi o zamućenosti vode pa bi se mogla kombinirati s filtriranjem. Osim toga, nekoliko je činjenica koje ne idu u prilog upotrebi ozona u akvakulturi. Naime, postoji mogućnost proizvodnje mutagena pa se ne preporučuje doticaj ozona sa školjkašima. U SAD-u je njegova upotreba u svrhu purifikacije zabranjena, a veliki oksidacijski potencijal može prouzročiti oksidaciju tkiva, osobito onoga bogatog lipidima, rezultirajući pokvarenim mesom (Bitton, 1994). Mogućnost kontaminacije vode može se smanjiti upotrebom više barijera od kojih bi svaka djelovala drukčije, npr. filtri i ozonizacija. Ovakvi načini depuracije primjenjuju se u Francuskoj, Španjolskoj i u Australiji.

Klor u obliku plina ili natrijeva hipoklorita, rabi se kao dezinficijens vode širom svijeta (Trojan i Hansen, 1989). Klor djeluje kao oksidans oštećujući vanjsku stijenku i nukleinsku kiselinu bakterija, dok su enterovirusi i spore praživotinja otporni na njegovo djelovanje (Bitton, 1994). Upotreba klora u akvakulturi ima ograničenja zbog sekundarnog nastanka karcinogenih trihalometana, pa se rabe bezopasni kloramini koji zahtijevaju više vremena za učinkovitu dezinfekciju (Pilkington, 1995). Dezinfekcijom klorom koriste se purifikacijska postrojenja u Francuskoj, Španjolskoj i u Italiji.

Dosad je najmanje ispitano djelovanje joda kao dezinficijensa, iako se upotrebljava u postupcima purifikacije nekih školjkaša u Italiji (Otwell i sur., 1991). Kao i za druge postupke purifikacije, na učinkovitost dezinfekcije jodom utječu boja vode, razina sedimentacije i kiselost, ali se dosadašnji podaci ne smatraju dovoljnima za donošenje zaključaka o pogodnosti upotrebe joda kao purifikatora (Jackson i Ogburn, 1999).

Znatan utjecaj na filtriranje, probavu, mrijest i druge fiziološke funkcije školjkaša imaju slanost i temperatura purifikacijske vode, što kao posljedicu

ima utjecaj na učinkovitost odstranjivanja mikroorganizama (Shumway, 1996).

ZAKLJUČAK

Unatoč poduzetim mjerama i propisima, bolesti čiji su uzročnici purificirani i nepurificirani školjkaši pojavljuju se širom svijeta. Teško je procijeniti povezanost tih bolesti s pogreškama u provedbi zdravstvenih mjera ili purifikacijskih procesa. Naime, često je nemoguće odrediti porijeklo školjkaša uzročnika tegoba, a često su i epidemiološki podaci povjerljivi, pa je nemoguće sa sigurnošću utvrditi jesu li konzumirani školjkaši sa sigurnog područja ili je purifikacija bila neadekvatna. Najveći se broj slučajeva dovodi u vezu s virusima, što je, u pravilu, praćeno epidemijama. Česte su bolesti izazvane humanim enterovirusima, a izravno su vezane za školjkaše koji se uzgajaju u područjima onečišćenima ljudskim fekalijama. Osim toga, u porastu su i bolesti za čiju su pojavu odgovorni biotoksini vezani uz fitoplankton (Jackson i Ogburn, 1999).

Summary

SHELLFISH DEPURATION

A. Bratoš

Pollution of marine environment influences seafood safety and quality, such is particularly the case with inshore growing organisms. With increased population and activities along the coast, shellfish contamination issue increases. While cooking inactivates pathogens, shellfish that are eaten raw are of special danger for human health. The need for purification of uncooked shellfish resulted with development of depuration. Depuration is a dynamic process, by using shellfish physiology it allows purging of contaminants in tanks of clean seawater, which results in reduced pathogen levels in shellfish.

Key words: depuration, shellfish farming

LITERATURA

- Ahmed, F. E. (1992): Review: Assessing and managing risk due to consumption of seafood contaminated with microorganisms, parasites, and natural toxins in the US. *International Journal of Food Science and Technology*, 27, 243–260.
- Ayres, P. A. (1991): The status of shellfish depuration in Australia and south-east Asia. In: Otwell, W. S., Rodrick G. E., Martin R. E. (eds.) *Molluscan Shellfish Depuration*. CRC Press, Boca Raton, FL. pp: 287–322.
- Bean, N. H., Griffin, P. M. (1990): Foodborne disease outbreaks in the United States, 1973–1987: pathogens, vehicles and trends. *Journal of Food Protection*, 53, (9), 804–817.
- Bitton, G. (1994): *Wastewater Microbiology*. Wiley-Liss, New York. 478 pp.
- Campell, A. T., Robertson, L. J., Snowball, M. R., Smith, H. V. (1995): Inactivation of oocysts of *Cryptosporidium parvum* by ultraviolet irradiation. *Water Research*, 29, 2583–2586.
- Crnčević, M. (2002): Učinak UV zračenja i ozona na preživljavanje cista i nauplija račića *Artemia* (Crustacea, Branchiopoda). Magistarski rad. Sveučilište u Zagrebu, 2002, pp 54.
- Davis, D. A., Arnold, C. R. (1997): Tolerance of the rotifer *Brachionus plicatilis* to ozone and total oxidative residuals. *Ozone science and engineering*, 19, 457–469.
- Eyles, M. J. (1980): Accumulation and elimination of viruses by oysters. *Food Technology in Australia*, 32, (2), 89–91.
- FAO/WHO Collaborating Centre for Research and Training in Food Hygiene and Zoonoses (2001): Surveillance Programme for Control of Foodborn Infections and Intoxications in Europe. Seventh Report 1993–1998. Federal Institute for Health Protection of Consumers and Veterinary Medicine. Berlin, 2001, pp 480.
- Haag, W. R., Hoigne, J. (1984): Kinetics and products of the reactions of ozone with various forms of chlorine and bromine in water. *Ozone Science and Engineering*, 6, 103–114.
- Hall, S. (1991): Natural Toxins. In: Ward, D. R., Hackney, C. R. (eds.) *Microbiology of Marine Food Products*, Van Nostrand Reinhold, New York. pp 301–330.
- Jackson, K. L., Ogburn, D. M. (1999): Review of Depuration and its Role in Shellfish Quality Assurance. NSW Fisheries Final Report Series, No. 13, pp 77.
- Lazarova, V., Savoye, P., Janex, M. L., Blatchley III, E. R., Pommepuy, M. (1999): Advanced wastewater disinfection technologies: state of the art and perspectives. *Water Science Technology*, 40, 203–213.
- Liltved, H., Hektoen, H., Efraimssen, H. (1995): Inactivation of bacterial and viral fish pathogens by ozonisation or UV irradiation in water of different salinity. *Aquacultural Engineering*, 14, 107–122.
- Metkalf, T. G., Mullin, B., Eckerson, D., Moulton, E., Larkin, E. P. (1979): Bioaccumulation and depuration of enteroviruses by the soft-shelled clam *Mya arenaria*. *Applied and Environmental Microbiology*, 38, (2), 275–282.

- Ministarstvo poljoprivrede i šumarstva, Uprava za veterinarstvo (2003): Plan praćenja kvalitete mora i školjaka na područjima uzgoja, izlova i polaganja. Plan za 2003. godinu. Zagreb, 13. veljače 2003, pp 11.
- Morse, D. L., Guzewich, J. J., Hanrahan, J. P., Stricof, R., Scayeghani, M., Deibel, R., Grabau, J. C., Nowak, N. A., Herrmann, J. E., Cukor, G., Blacklow, N. R. (1986): Widespread outbreaks of clam— and oyster—associated gastroenteritis. Role of Norwalk virus. *New England Journal of Medicine*, 314, (11), 678–681.
- National Shellfish Sanitation Program (NSSP) (1990a): Manual of Operations, Part 1: Sanitation of Shellfish-Growing Areas. Public Health Service, U. S. Food and Drug Administration, Washington D. C.
- National Shellfish Sanitation Program (NSSP) (1990b): Manual of Operations, Part 2: Sanitation of Harvesting, Processing and Distribution of Shellfish. Public Health Service, U. S. Food and Drug Administration, Washington D. C.
- Newell, R. I. E., Langdon, C. J. (1996): Mechanisms and physiology of larval and adult feeding. U: V. S. Kennedy, R. I. E. Newell and A. F. Elbe (eds). *The Eastern Oyster Crassostrea virginica*. Maryland Sea Grant College, College Park, Maryland, pp 185–229.
- Otwell, W. S., Rodrick, G. E., Martin, R. E. (1991): *Molluscan Shellfish Depuration*. CRC Press, Boca Raton, FL. pp 384.
- Pilkington, N. H. (1995): Disinfection of Water and Waste Water by Ultraviolet Radiation. In: Kolarik, L. O., Priestley, A. J. (eds.) *Modern Techniques in Water and Wastewater Treatment*, CSIRO Publishing, East Melbourne, pp 81–87.
- Richards, G. P. (1985): Outbreaks of shellfish-associated enteric virus illness in the United States: Requisite for development of viral guidelines. *Journal of Food Protection*, 48, (9), 815–823.
- Richards, G. P. (1988): Microbial purification of shellfish: a review of depuration and relaying. *Journal of Food Protection*, 51, (3), 218–251.
- Severin, B. F., Makram, T. S., Engelbrecht, S. (1983): Effects of temperature on ultraviolet light disinfection. *Environmental science and technology*, 17, 717–721.
- Shumway, S. E. (1996) Natural Environmental Factors. In: Kennedy, V. S., Newell, R. I. E., Elbe, A. F. (eds.) *The Eastern Oyster Crassostrea virginica*. Maryland Sea Grant College, College Park, Maryland. pp 467–513.
- Sommer, R., Cabaj, A., Schoenen, D., Gebel, J., Kolch, A., Havelaar, A. H., Shets, F. M. (1995): Comparison of three laboratory devices for UV-inactivation of microorganisms. *Water Science Technology*, 21, 179–195.
- Son, N. T., Fleet, G. H. (1980): Behaviour of pathogenic bacteria in the oyster, *Crassostrea commercialis*, during depuration, re-laying and storage. *Applied and Environmental Microbiology*, 40, (6), 994–1002.
- Souness, R. A., Fleet, G. H. (1991): Bacterial agents in shellfish depuration. In: Otwell, W. S., Rodrick, G. E., Martin, R. E. (eds.) *Molluscan Shellfish Depuration*. CRC Press, Boca Raton, FL. pp 59–70.
- Souness, R. A., Bowrey, R. G., Fleet, G. H. (1979): Commercial depuration of the Sydney rock oyster, *Crassostrea commercialis*. *Food Technology in Australia*, 31, 531–537.

- Tamplin, M. L., Capers, G. M. (1992): Persistence of *Vibrio vulnificus* in seawater, sediment and oysters. *Applied and Environmental Microbiology*, 58, (5), 1506–1510.
- Troyan, J. J., Hansen, S. P. (1989): Treatment of Microbial Contaminants in potable Water Supplies: Technologies and Costs. *Pollution Technology Review No. 171*, Noyes Data Corporation, New Jersey, USA. pp 335.
- United States Food and Drug Administration (1983): England shellfish program review— 1983. Food and Drug Administration, North Kingstown, R. I. pp 68.
- West, P. A. (1991): An Overview of the Bivalve Molluscan Shellfish Industry and Depuration Practices in the United Kingdom. In: Otwell, W. S., Rodrick, G. E., Martin, R. E. (eds.) *Molluscan Shellfish Depuration*, CRC Press, Boca Raton, FL. pp 275–285.

Primljeno: 25. 11. 2003.
Prihvaćeno: 6. 2. 2004.