



**UNIVERZITET U NOVOM SADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET
VETERINARSKA MEDICINA**

**HAPTOGLOBIN, MAKROSKOPSKI I
BAKTERIOLOŠKI INDIKATORI RIZIKA PO
BEZBEDNOST MESA NA KLANICI**

Doktorska disertacija

Mentor: Prof. dr Sava Bunčić

Kandidat: Dr vet. med. Bojan Blagojević

Novi Sad, 2011. godina

**KOMISIJA ZA OCENU I ODBRANU
DOKTORSKE DISERTACIJE**

Dr Sava Bunčić, redovni profesor, mentor,
za užu naučnu oblast Bolesti životinja i higijena animalnih proizvoda
Poljoprivredni fakultet, Novi Sad
Departman za veterinarsku medicinu

Dr Stanko Boboš, redovni profesor, predsednik,
za užu naučnu oblast Bolesti životinja i higijena animalnih proizvoda
Poljoprivredni fakultet, Novi Sad
Departman za veterinarsku medicinu

Dr Milan Baltić, redovni profesor, član,
za užu naučnu oblast Higijena i tehnologija namirnica
Fakultet veterinarske medicine, Beograd
Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica

**UNIVERZITET U NOVOM SADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET**

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj:
RBR

Identifikacioni broj:
IBR

Tip dokumentacije: Monografska dokumentacija
TD

Tip zapisa: Tekstualni štampani materijal
TZ

Vrsta rada: Doktorska disertacija
VR

Ime i prezime autora: Dr vet. med. Bojan Blagojević
AU

Mentor: Dr Sava Bunčić, redovni profesor
MN

Naslov rada: Haptoglobin, makroskopski i bakteriološki
indikator rizika po bezbednost mesa na klanici
NR

Jezik publikacije: Srpski
JP

Jezik izvoda: Srpski / Engleski
JI

Zemlja publikovanja: Srbija
ZP

Uže geografsko područje: Vojvodina
UGP

Godina: 2011.
GO

Izdavač: Autorski reprint
IZ

Mesto i adresa: Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8
MA

Fizički opis rada: 7 poglavlja / 216 stranica / 9 slika / 41 tabela / 22
FO grafikona / 425 referenci

Naučna oblast: Veterinarska medicina
NO

Naučna disciplina: Bolesti životinja i higijena animalnih proizvoda
ND

Predmetna odrednica, ključne reči: Haptoglobin, inspekcija mesa, bezbednost mesa,
PO procesna higijena, *Escherichia coli* O157,
Salmonella, goveda, svinje

UDK: 637.13.12:637.51(043.3)

Čuva se: Biblioteka Poljoprivrednog fakulteta, Novi Sad
ČU

Važna napomena: Nema
VN

Izvod:
IZ

Glavni cilj ovog rada je bio da se razviju i optimizuju objektivni i merljivi indikatori bioloških rizika po bezbednost mesa trupova, kao i da se – na osnovu kvalitativne ocene rizika - objektivno sagledaju i uporede performanse glavnih strategija za upravljanje tim rizicima na klanicama za goveda i svinje.

Ispitan je potencijal haptoglobina goveda i svinja, podeljenih u grupe na osnovu njihove pred-istorije ili nalaza tokom inspekcije mesa, kao indikatora za njihovu rizičnu kategorizaciju pre klanja u pogledu prisustva patoloških lezija. Svaka životinja je bila podvrgnuta aktuelnoj zvaničnoj inspekciji mesa i određen je nivo haptoglobina u krvnom serumu. I u svinja i u goveda, srednje vrednosti koncentracije haptoglobina su bile značajno više u grupama kod kojih su detektovane abnormalnosti u odnosu na grupe ovih životinja bez nađenih promena, ali takva korelacija nije utvrđena na nivou individualne životinje. Studija je ukazala da određivanje srednjeg nivoa haptoglobina u grupa životinja namenjenih klanju može da služi kao dodatni, objektivni indikator opšte prihvatljivosti zdravstvenog statusa i/ili farme porekla životinja, u okviru analize informacija iz lanca hrane kao dela premortalne inspekcije. Ovo je važno zbog donošenja odluke o sprovođenju pojednostavljene ili detaljnije postmortalne inspekcije određenih životinja ili grupa životinja na klanicama.

U pogledu indikatora rizika od mikrobiološke kontaminacije obrađenih govedih trupova, ispitana je mogućnost korišćenja numeričke ocene vizuelne čistoće goveda pre klanja. Vizuelno je ocenjena čistoća kože goveda (na skali od 1 do 4), a zatim su na obrađenim trupovima određeni nivoi generičke mikrobiote i prisustvo *Escherichia coli* O157. Utvrđena je globalna korelacija između vizuelne čistoće kože i nivoa generičke mikrobiote na obrađenim trupovima, ali su se ti nivoi značajno razlikovali samo između trupova vrlo prljavih goveda (kategorija 4) i svih drugih manje prljavih ili čistih (kategorije 1, 2 i 3). U pogledu vizuelne čistoće goveda i prisustva *Escherichia coli* O157 na obrađenim trupovima, jasna korelacija nije utvrđena. Potvrđena je opravdanost korišćenja sistema vizuelne ocene čistoće goveda i korisnost ove ocene kao jednog od indikatora nivoa rizika od mikrobiološke kontaminacije obrađenih trupova u pogledu generičke mikrobiote.

Takođe, ispitana je mogućnost korišćenja kvantitativnog odnosa između nivoa ulazne (na koži) i finalne (na obrađenim trupovima) mikrobiološke kontaminacije kao potencijalnog indikatora za rizičnu kategorizaciju govedih i svinjskih klanica u pogledu njihovih performansi u redukciji rizika od mikrobiološke kontaminacije mesa. Na kožama i trupovima goveda i svinja su određeni nivoi generičke mikrobiote i prisustvo najznačajnijih patogena u lancu govedeg (*Escherichia coli* O157) i svinjskog mesa (*Salmonella*). Rezultati su pokazali da je odnos statusa kože i obrađenog trupa u pogledu nivoa generičke mikrobiote precizniji i pouzdaniji u diferencijaciji performansi procesne higijene klanica, u poređenju sa zvaničnim aktuelnim kriterijumima procesne higijene navedenim u legislativi Evropske Unije. S druge strane, rezultati su ukazali da korišćenje prevalencije patogena kao parametra u karakterizaciji procesne higijene klanica nije korisno.

Pored toga, upoređeni su potencijalni doprinosi glavnih današnjih strategija u upravljanju biološkim rizicima za bezbednost mesa na klanicama za goveda i svinje - aktuelne inspekcije mesa i procesne higijene klanice - ukupnom osiguranju biološke bezbednosti mesa. Kvalitativno su ocenjeni rizici po zdravlje ljudi od alimentarnih hazarda povezanih sa goveđim ili svinjskim mesom, koje je moguće kontrolisati jednom od ove dve strategije na klanicama. Poređenjem nivoa ocenjenih rizika, utvrđeno je da

adekvatna procesna higijena danas značajno više doprinosi ukupnoj biološkoj bezbednosti mesa trupova goveda i svinja u odnosu na aktuelnu inspekciju mesa. Ipak, u globalnom sistemu bezbednosti mesa, obe navedene strategije moraju da imaju specifičnu ulogu, shodno oceni rizika od hazarda koje kontrolišu.

Sveukupno, ova studija je pružila naučnu osnovu za dalje unapređenje savremenog, longitudinalnog i integrisanog sistema biološke bezbednosti goveđeg i svinjskog mesa, kao i za korišćenje nekih novih indikatora bioloških rizika u tom sistemu. Istovremeno, ukazala je i na potrebu i smer za dalja/dublja istraživanja za optimizaciju i implementacije tog modernog sistema i predloženih indikatora rizika u praksi.

Datum prihvatanja teme od strane 02.02.2011.

NN veća:

DP

Datum odbrane: _____

DO

Članovi komisije:

KO

Dr Sava Bunčić, redovni profesor, (mentor)
Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu
Naučna oblast: Bolesti životinja i higijena
animalnih proizvoda

Dr Stanko Boboš, redovni profesor, (predsednik)
Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu
Naučna oblast: Bolesti životinja i higijena
animalnih proizvoda

Dr Milan Baltić, redovni profesor, (član)
Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u
Beogradu
Naučna oblast: Higijena i tehnologija namirnica

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF AGRICULTURE**

KEY WORD DOCUMENTATION

Accession number:
ANO
Identification number:
INO
Document type: Monograph documentation
DT
Type of record: Textual printed material
TR
Contents code: Doctoral dissertation
CC
Author: Bojan Blagojević, DVM
AU
Mentor: Sava Bunčić, PhD, full professor
MN
Title: Haptoglobin, macroscopic and bacterial indicators
of the risk for meat safety at abattoir
TI
Language of text: Serbian
LT
Language of abstract: Serbian / English
LA
Country of publication: Serbia
CP
Locality of publication: Vojvodina
LP
Publication year: 2011.
PY
Publisher: Author's reprint
PU
Publication place: Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8
PP
Physical description: 7 chapters / 216 pages / 9 images / 41 tables / 22
graphs / 425 references
PD
Scientific field: Veterinary medicine
SF
Scientific discipline: Animal diseases and hygiene of animal production
SD
Subject, keywords: Haptoglobin, meat inspection, meat safety, process
hygiene, *Escherichia coli* O157, *Salmonella*,
cattle, pigs
SKW
UC
637.13.12:637.51(043.3)
Holding data: Library, Faculty of Agriculture, Novi Sad
HD
Note: None
N

Abstract:

AB

The main aim of this work was to develop and optimize objective and measurable indicators of biological risks for the safety of carcass meat, and to - based on qualitative risk assessment - identify and objectively compare performances of the main risk management strategies in cattle and pig abattoirs.

The potential of haptoglobin as an indicator of animal pre-slaughter risk classification regarding the presence of pathological lesions was investigated in cattle and pigs which were divided into groups, based on their pre-history or meat inspection findings. Each animal was subjected to the current official meat inspection and blood serum haptoglobin level determination. In both cattle and pigs, the mean haptoglobin concentrations were significantly higher in groups with abnormalities than in those without, but such a correlation was not been established at the level of individual animals. The study indicated that the mean haptoglobin level in groups of animals intended for slaughter can be used as an additional, objective indicator of general health status of animals and/or appropriateness of farm of their origin, when analysing the food chain information as a part of the *ante-mortem* inspection. This is important in deciding whether to perform simplified or detailed *post-mortem* inspection of certain animals or groups of animals at abattoirs.

The numerical assessment of cattle cleanliness before slaughter was evaluated as a risk indicator of dressed beef carcasses' microbial contamination. Cattle hide cleanliness was visually assessed (on a scale of 1 to 4) and levels of generic microbiota and occurrence of *Escherichia coli* O157 on dressed carcass were determined. A global correlation was found between the visual hide cleanliness and generic microbiota levels on dressed carcasses, but these levels significantly differed only between very dirty cattle (category 4) and all other less dirty or clean cattle (categories 1, 2 and 3). Regarding the visual cattle cleanliness and the presence of *Escherichia coli* O157 on dressed carcasses, a clear relationship was not determined. The validity of cattle cleanliness visual assessment system and usefulness of this as an indicator of risk of generic microbiota contamination of dressed carcasses was confirmed.

Also, the quantitative relationship between the levels of incoming (hide/skin) and final (dressed carcasses) microbiological contamination was evaluated as an indicator for risk categorization of cattle and pig abattoirs in terms of their performances in reducing the risk of microbiological contamination of meat. Levels of generic microbiota and occurrence of the major pathogens in beef (*Escherichia coli* O157) and pork chain (*Salmonella*) were determined on hides/skins and dressed carcasses. The results showed that the ratio between generic microbiota levels on dressed carcasses and hides/skins is more precise and more reliable in the differentiation of process hygiene performances of abattoirs, compared to the official current process hygiene criteria laid down in the European Union legislation. On the other hand, the results indicated that the prevalence of pathogens is not useful as a parameter in the characterization of abattoir process hygiene.

Additionally, potential contributions of the main current strategies in biological meat safety risk management in cattle and pig abattoirs - the current meat inspection and abattoir process hygiene - in ensuring the overall biological safety of meat were compared. Human health biological foodborne risks associated with beef or pork that can be controlled by one of the two strategies at abattoirs were qualitatively assessed. Comparing the levels of assessed risks, it was concluded that adequate process hygiene currently contributes significantly more to the overall biological safety of beef and pork

carcasses than current meat inspection. However, in the global meat safety assurance system, both of these strategies must have a specific role, according to the risk assessment of hazards which they individually control.

Overall, this study has provided a scientific basis for the further development of contemporary, longitudinal and integrated risk management system for biological safety of beef and pork, as well as the use of some new indicators of biological risk in such a system. At the same time, it has indicated the needs and directions for further and more intensive research to optimize and implement that modern system and the proposed risk indicators in practice.

Accepted on Scientific Board on: 02.02. 2011.

AS

Defended: _____

DE

Thesis Defend Board:

DB

Dr Sava Bunčić, Full Professor, (Mentor)
Faculty of Agriculture, University of Novi Sad
Scientific discipline: Animal diseases and hygiene
of animal production

Dr Stanko Boboš, Full Professor, (President)
Faculty of Agriculture, University of Novi Sad
Scientific discipline: Animal diseases and hygiene
of animal production

Dr Milan Baltić, Full Professor, (Member)
Faculty of Veterinary Medicine, University of
Belgrade
Scientific discipline: Food hygiene and technology

HAPTOGLOBIN, MAKROSKOPSKI I BAKTERIOLOŠKI INDIKATORI RIZIKA PO BEZBEDNOST MESA NA KLANICI

Kratak sadržaj

Glavni cilj ovog rada je bio da se razviju i optimizuju objektivni i merljivi indikatori bioloških rizika po bezbednost mesa trupova, kao i da se – na osnovu kvalitativne ocene rizika - objektivno sagledaju i uporede performanse glavnih strategija za upravljanje tim rizicima na klanicama za goveda i svinje.

Ispitan je potencijal haptoglobina goveda i svinja, podeljenih u grupe na osnovu njihove pred-istorije ili nalaza tokom inspekcije mesa, kao indikatora za njihovu rizičnu kategorizaciju pre klanja u pogledu prisustva patoloških lezija. Svaka životinja je bila podvrgnuta aktuelnoj zvaničnoj inspekciji mesa i određen je nivo haptoglobina u krvnom serumu. I u svinja i u goveda, srednje vrednosti koncentracije haptoglobina su bile značajno više u grupama kod kojih su detektovane abnormalnosti u odnosu na grupe ovih životinja bez nađenih promena, ali takva korelacija nije utvrđena na nivou individualne životinje. Studija je ukazala da određivanje srednjeg nivoa haptoglobina u grupa životinja namenjenih klanju može da služi kao dodatni, objektivni indikator opšte prihvatljivosti zdravstvenog statusa i/ili farme porekla životinja, u okviru analize informacija iz lanca hrane kao dela premortalne inspekcije. Ovo je važno zbog donošenja odluke o sprovođenju pojednostavljene ili detaljnije postmortalne inspekcije određenih životinja ili grupa životinja na klanicama.

U pogledu indikatora rizika od mikrobiološke kontaminacije obrađenih govedih trupova, ispitana je mogućnost korišćenja numeričke ocene vizuelne čistoće goveda pre klanja. Vizuelno je ocenjena čistoća kože goveda (na skali od 1 do 4), a zatim su na obrađenim trupovima određeni nivoi generičke mikrobiote i prisustvo *Escherichia coli* O157. Utvrđena je globalna korelacija između vizuelne čistoće kože i nivoa generičke mikrobiote na obrađenim trupovima, ali su se ti nivoi značajno razlikovali samo između trupova vrlo prljavih goveda (kategorija 4) i svih drugih manje prljavih ili čistih (kategorije 1, 2 i 3). U pogledu vizuelne čistoće goveda i prisustva *Escherichia coli* O157 na obrađenim trupovima, jasna korelacija nije utvrđena. Potvrđena je opravdanost korišćenja sistema vizuelne ocene čistoće goveda i korisnost ove ocene kao jednog od indikatora nivoa rizika od mikrobiološke kontaminacije obrađenih trupova u pogledu generičke mikrobiote.

Takođe, ispitana je mogućnost korišćenja kvantitativnog odnosa između nivoa ulazne (na koži) i finalne (na obrađenim trupovima) mikrobiološke kontaminacije kao potencijalnog indikatora za rizičnu kategorizaciju govedih i svinjskih klanica u pogledu njihovih performansi u redukciji rizika od mikrobiološke kontaminacije mesa. Na kožama i trupovima goveda i svinja su određeni nivoi generičke mikrobiote i prisustvo najznačajnijih patogena u lancu govedeg (*Escherichia coli* O157) i svinjskog mesa (*Salmonella*). Rezultati su pokazali da je odnos statusa kože i obrađenog trupa u pogledu nivoa generičke mikrobiote precizniji i pouzdaniji u diferencijaciji performansi procesne higijene klanica, u poređenju sa zvaničnim aktuelnim kriterijumima procesne higijene navedenim u legislativi Evropske Unije. S druge strane, rezultati su ukazali da korišćenje prevalencije patogena kao parametra u karakterizaciji procesne higijene klanica nije korisno.

Pored toga, upoređeni su potencijalni doprinosi glavnih današnjih strategija u upravljanju biološkim rizicima za bezbednost mesa na klanicama za goveda i svinje - aktuelne inspekcije mesa i procesne higijene klanice - ukupnom osiguranju biološke bezbednosti mesa. Kvalitativno su ocenjeni rizici po zdravlje ljudi od alimentarnih hazarda povezanih sa goveđim ili svinjskim mesom, koje je moguće kontrolisati jednom od ove dve strategije na klanicama. Poređenjem nivoa ocenjenih rizika, utvrđeno je da adekvatna procesna higijena danas značajno više doprinosi ukupnoj biološkoj bezbednosti mesa trupova goveda i svinja u odnosu na aktuelnu inspekciju mesa. Ipak, u globalnom sistemu bezbednosti mesa, obe navedene strategije moraju da imaju specifičnu ulogu, shodno oceni rizika od hazarda koje kontrolišu.

Sveukupno, ova studija je pružila naučnu osnovu za dalje unapređenje savremenog, longitudinalnog i integrisanog sistema biološke bezbednosti goveđeg i svinjskog mesa, kao i za korišćenje nekih novih indikatora bioloških rizika u tom sistemu. Istovremeno, ukazala je i na potrebu i smer za dalja/dublja istraživanja za optimizaciju i implementacije tog modernog sistema i predloženih indikatora rizika u praksi.

Ključne reči: Haptoglobin, inspekcija mesa, bezbednost mesa, *Escherichia coli* O157, *Salmonella*, goveda, svinje

Doktorska disertacija je odložena u biblioteci Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu. Disertacija sadrži: 216 strana, 41 tabelu, 22 grafikona, 9 slika, 425 referenci, original na srpskom jeziku i kratak sadržaj na engleskom jeziku.

HAPTOGLOBIN, MACROSCOPIC AND BACTERIAL INDICATORS OF THE RISK FOR MEAT SAFETY AT ABATTOIR

Abstract

The main aim of this work was to develop and optimize objective and measurable indicators of biological risks for the safety of carcass meat, and to - based on qualitative risk assessment - identify and objectively compare performances of the main risk management strategies in cattle and pig abattoirs.

The potential of haptoglobin as an indicator of animal pre-slaughter risk classification regarding the presence of pathological lesions was investigated in cattle and pigs which were divided into groups, based on their pre-history or meat inspection findings. Each animal was subjected to the current official meat inspection and blood serum haptoglobin level determination. In both cattle and pigs, the mean haptoglobin concentrations were significantly higher in groups with abnormalities than in those without, but such a correlation was not been established at the level of individual animals. The study indicated that the mean haptoglobin level in groups of animals intended for slaughter can be used as an additional, objective indicator of general health status of animals and/or appropriateness of farm of their origin, when analysing the food chain information as a part of the *ante-mortem* inspection. This is important in deciding whether to perform simplified or detailed *post-mortem* inspection of certain animals or groups of animals at abattoirs.

The numerical assessment of cattle cleanliness before slaughter was evaluated as a risk indicator of dressed beef carcasses' microbial contamination. Cattle hide cleanliness was visually assessed (on a scale of 1 to 4) and levels of generic microbiota and occurrence of *Escherichia coli* O157 on dressed carcass were determined. A global correlation was found between the visual hide cleanliness and generic microbiota levels on dressed carcasses, but these levels significantly differed only between very dirty cattle (category 4) and all other less dirty or clean cattle (categories 1, 2 and 3). Regarding the visual cattle cleanliness and the presence of *Escherichia coli* O157 on dressed carcasses, a clear relationship was not determined. The validity of cattle cleanliness visual assessment system and usefulness of this as an indicator of risk of generic microbiota contamination of dressed carcasses was confirmed.

Also, the quantitative relationship between the levels of incoming (hide/skin) and final (dressed carcasses) microbiological contamination was evaluated as an indicator for risk categorization of cattle and pig abattoirs in terms of their performances in reducing the risk of microbiological contamination of meat. Levels of generic microbiota and occurrence of the major pathogens in beef (*Escherichia coli* O157) and pork chain (*Salmonella*) were determined on hides/skins and dressed carcasses. The results showed that the ratio between generic microbiota levels on dressed carcasses and hides/skins is more precise and more reliable in the differentiation of process hygiene performances of abattoirs, compared to the official current process hygiene criteria laid down in the European Union legislation. On the other hand, the results indicated that the prevalence of pathogens is not useful as a parameter in the characterization of abattoir process hygiene.

Additionally, potential contributions of the main current strategies in biological meat safety risk management in cattle and pig abattoirs - the current meat inspection and abattoir process hygiene - in ensuring the overall biological safety of meat were compared. Human health biological foodborne risks associated with beef or pork that can be controlled by one of the two strategies at abattoirs were qualitatively assessed. Comparing the levels of assessed risks, it was concluded that adequate process hygiene currently contributes significantly more to the overall biological safety of beef and pork carcasses than current meat inspection. However, in the global meat safety assurance system, both of these strategies must have a specific role, according to the risk assessment of hazards which they individually control.

Overall, this study has provided a scientific basis for the further development of contemporary, longitudinal and integrated risk management system for biological safety of beef and pork, as well as the use of some new indicators of biological risk in such a system. At the same time, it has indicated the needs and directions for further and more intensive research to optimize and implement that modern system and the proposed risk indicators in practice.

Keywords: Haptoglobin, meat inspection, meat safety, *Escherichia coli* O157, *Salmonella*, cattle, pigs

Doctoral dissertation is stored at the Library of the Faculty of Agriculture, University of Novi Sad. Content: 216 pages, 41 tables, 22 graphs, 9 images, 425 references, the original in Serbian and abstract in English.

SADRŽAJ

SADRŽAJ	XIII
LISTA TABELA.....	XVIII
LISTA GRAFIKONA.....	XX
LISTA SLIKA.....	XXI
LISTA SKRAĆENICA.....	XXII
I - OPŠTI UVOD.....	1
II - PREGLED LITERATURE	5
II - 1. PREGLED PODATAKA O DANAŠNJEM STANJU BEZBEDNOSTI MESA	6
1.1. Salmoneloza	7
1.2. Kampilobakterioza	11
1.3. Listerioza.....	14
1.4. Bolest izazvana verocitotoksičnom <i>Escherichia coli</i>	16
1.5. Jerzinioza.....	18
1.6. Trihineloza	20
1.7. Toksoplazmoza.....	21
1.8. Tuberkuloza izazvana sa <i>Mycobacterium bovis</i>	22
II - 2. ISTORIJAT SISTEMA BEZBEDNOSTI MESA.....	24
II - 3. “FOOD CHAIN“ – “LONGITUDINAL INTEGRATED SAFETY ASSURANCE” KONCEPT U KONTEKSTU BEZBEDNOSTI MESA	26
II - 4. ANALIZA RIZIKA.....	31
4.1. Ocena rizika.....	32
4.1.1. Proces ocene rizika.....	35
4.1.1.1. Iznošenje svrhe ocene rizika	35
4.1.1.2. Identifikacija hazarda.....	36
4.1.1.3. Karakterizacija hazarda.....	36
4.1.1.3.1 Odnos doza-odgovor	37
4.1.1.4. Ocena ekspozicije	38
4.1.1.5. Karakterizacija rizika	40
4.1.1.6. Formalni izveštaj ocene rizika	41
4.2. Upravljanje rizikom.....	41
4.2.1. Primer upravljanja rizikom: koncept HACCP	43
4.2.2. Primer upravljanja rizikom: koncept <i>Codex Alimentarius</i> -a.....	48
4.2.6.1. Prigodni nivo zaštite i postavljanje ciljeva javnog zdravlja.....	49
4.2.6.2. Zadatak bezbednosti hrane.....	50
4.2.6.3. Zadatak performanse.....	52

4.2.6.4. Kriterijum performanse i procesni kriterijum	52
4.3. Komunikacija rizika	53
II - 5. KRATAK PREGLED GLAVNIH ASPEKATA/ELEMENATA BEZBEDNOSTI MESA U EU „HIGIJENSKOM PAKETU 2004“	55
5.1. Inspekcija mesa	57
5.1.1. Informacije iz lanca hrane	57
5.1.1.1. Koncept integrisanog sistema proizvodnje i glavni elementi FCI.....	59
5.1.2. <i>Ante-mortem</i> inspekcija.....	61
5.1.3. <i>Post-mortem</i> inspekcija.....	63
5.1.3.1. <i>Post-mortem</i> inspekcija goveda	66
5.1.3.2. <i>Post-mortem</i> inspekcija svinja	67
5.2. Mikrobiološki kriterijumi za meso	68
5.2.1. Kriterijumi bezbednosti hrane (mesa).....	68
5.2.2. Kriterijumi procesne higijene.....	70
5.3. Dobri aspekti i slabosti rešenja u „Higijenskom paketu 2004“	72
5.3.1. Inspekcija mesa	72
5.3.1.1 Informacije iz lanca hrane.....	72
5.3.1.2 <i>Ante-mortem</i> inspekcija	72
5.3.1.3 <i>Post-mortem</i> inspekcija.....	73
5.3.2 Mikrobiološki kriterijumi.....	80
II - 6. PRAVCI MOGUĆIH POBOLJŠANJA POSTOJEĆEG SISTEMA BEZBEDNOSTI MESA NA KLANICI.....	83
6.1. Praćenje agenasa kroz EU sistem monitoringa zoonoza.....	83
6.2. Alternativni metodi pregleda životinja i mesa na klanici.....	85
6.2.1. Proteini akutne faze.....	85
6.2.1.1. Odgovor organizma u akutnoj fazi	87
6.2.1.2 Primena proteina akutne faze u veterinarskoj medicini	89
6.2.1.2.1 Haptoglobin.....	89
6.2.1.2.2. C-reaktivni protein	94
6.2.1.2.3 Serum amiloid A	94
6.2.1.2.4 Ostali proteini akutne faze.....	95
6.2.2. Alternativni metodi za detekciju nekih specifičnih bolesti pre klanja	96
6.2.2.1. Cisticerkoza.....	96
6.2.2.2. Bovina tuberkuloza	97
6.2.3. Metodi za detekciju mikrobiološke kontaminacije mesa trupova.....	98
6.3. Alternativni metodi za ocenu procesne higijene u klanicama.....	99
III - CILJEVI ISTRAŽIVANJA	101

III - 1. DANAŠNJE GLOBALNE NEDOVOLJNOSTI ILI PRAZNINE U NAUČNIM SAZNANJIMA U OBLASTI KOJOM SE BAVI OVAJ RAD.....	102
III - 2. RADNA HIPOTEZA.....	105
III - 3. ZADACI RADA.....	106
IV - NALAZI DISERTACIJE PO ZADACIMA.....	107
IV - 1. NIVOI HAPTOGLOBINA U GRUPAMA GOVEDA I SVINJA SA I BEZ ABNORMALNOSTI NA INSPEKCIJI MESA.....	108
1.1 Kratak sadržaj.....	109
1.2 Uvod.....	109
1.3 Materijali i metodi.....	111
1.3.1 Životinje.....	111
1.3.2 <i>Ante-mortem</i> i <i>post-mortem</i> inspekcija životinja.....	111
1.3.3 Uzorkovanje krvi i izdvajanje seruma.....	111
1.3.4 Određivanje koncentracije haptoglobina u krvnom serumu goveda.....	111
1.3.5 Određivanje koncentracije haptoglobina u krvnom serumu svinja.....	112
1.3.6 Analiza rezultata.....	113
1.4 Rezultati.....	113
1.4.1 Pregled nalaza inspekcije mesa u zaklanih goveda i svinja.....	113
1.4.2 Razlike u srednjoj vrednosti Hp u zaklanih goveda na grupnom nivou.....	114
1.4.3 Razlike u srednjoj vrednosti Hp u zaklanih svinja na grupnom nivou.....	116
1.5. Diskusija.....	117
1.5.1 Nivoi Hp u grupama goveda sa i bez promena na inspekciji mesa.....	117
1.5.2 Nivoi Hp u grupama svinja sa i bez promena na inspekciji mesa.....	118
1.5.3 Potencijalne implikacije Hp rezultata za sistem inspekcije mesa.....	119
1.6 Zaključak.....	120
IV - 2. ODNOS IZMEĐU OCENE VIZUELNE ČISTOĆE GOVEDA I MIKROBIOLOŠKOG STATUSA KOŽE I OBRAĐENIH TRUPOVA.....	121
2.1 Kratak sadržaj.....	122
2.2 Uvod.....	122
2.3 Materijali i metodi.....	123
2.3.1 Životinje i klanice.....	123
2.3.2 Ocena čistoće kože goveda.....	124
2.3.3 Uzorkovanje koža i trupova.....	125
2.3.4 Homogenizacija uzoraka.....	126
2.3.5 Određivanje ukupnog broja bakterija i broja <i>Enterobacteriaceae</i>	126
2.3.6 Detekcija <i>Escherichia coli</i> O157.....	127
2.3.7 Analiza rezultata.....	127

4.3.4 Prevalencija hazarda na ohlađenim trupovima goveda i svinja	152
4.3.5 Povezanost bolesti ljudi sa izvorom infekcije (“source attribution“).....	153
4.3.6 Karakterizacija rizika	153
4.3.7 Poređenje performansi inspekcije mesa i procesne higijene.....	153
4.4 Rezultati	154
4.4.1 Identifikacija hazarda	154
4.4.2 Karakterizacija hazarda	157
4.4.3 Ocena ekspozicije	158
4.4.4 Karakterizacija rizika	160
4.4.5 Poređenje performansi inspekcije mesa i procesne higijene.....	163
4. 5 Diskusija.....	164
4.5.1 Goveda	164
4.5.2 Svinje	165
4.5.3 Unapređenje osiguranja bezbednosti mesa trupova goveda i svinja u budućnosti	166
4. 6. Zaključak.....	168
V - UKUPNA DISKUSIJA I POTREBA ZA DALJIM ISTRAŽIVANJIMA	169
V-1. UKUPNA DISKUSIJA.....	170
1.1 Rizična kategorizacija goveda i svinja za klanje.....	170
1.2 Rizična kategorizacija govedih i svinjskih klanica	173
1.3 Analiza rizika u sistemu osiguranja bezbednosti mesa finalnih trupova i poređenje globalnih performansi današnjih glavnih opcija kontrole rizika	174
V-2. POTREBA ZA DALJIM ISTRAŽIVANJIMA	179
VI - UKUPNI ZAKLJUČAK.....	180
VII - LITERATURA.....	183

LISTA TABELA

Tabela 1 - Ukupan broj potvrđenih slučajeva bolesti obuhvaćenih monitoringom zoonotskih agenasa u EU u periodu 2004-2009. godine	7
Tabela 2 - Primeri publikovanih mikrobioloških ocena rizika za hazarde u mesu	41
Tabela 3 - Procedure <i>post-mortem</i> inspekcije goveda i svinja	65
Tabela 4 - Kriterijumi bezbednosti mesa	69
Tabela 5 - Kriterijumi procesne higijene za meso i proizvode od mesa	70
Tabela 6 - Mogući nalazi prilikom <i>post-mortem</i> inspekcije trupova goveda	75
Tabela 7 - Mogući nalazi prilikom <i>post-mortem</i> inspekcije glave i vrata goveda	76
Tabela 8 - Mogući nalazi prilikom <i>post-mortem</i> inspekcije toraksa goveda	77
Tabela 9 - Mogući nalazi prilikom <i>post-mortem</i> inspekcije abdomena goveda	78
Tabela 10 - Mogući nalazi prilikom <i>post-mortem</i> inspekcije organa svinja	79
Tabela 11 - Mogući nalazi prilikom <i>post-mortem</i> inspekcije trupa svinja	80
Tabela 12 - Glavne karakteristike sistemskog odgovora organizma u akutnoj fazi	88
Tabela 13 - Biološke aktivnosti pojedinih proteina akutne faze	89
Tabela 14 - Neke prirodno izazvane bolesti/stanja u goveda sa značajno povišenim nivoom Hp	91
Tabela 15 - Neke eksperimentalno izazvane bolesti/stanja u goveda sa značajno povišenim nivoom Hp	92
Tabela 16 - Neke prirodno izazvane bolesti/stanja u svinja sa značajno povišenim nivoom Hp	93
Tabela 17 - Neke eksperimentalno izazvane bolesti/stanja u svinja sa značajno povišenim nivoom Hp	93
Tabela 18 - Povišen nivo serum amiloida A pri nekim stanjima u goveda i svinja	95
Tabela 19 - Organi u kojima su nađene promene i tipovi promena detektovani u zaklanih goveda i svinja	114
Tabela 20 - Srednja vrednost Hp u goveda sa i bez promena na inspekciji mesa	115
Tabela 21 - Srednja vrednost Hp u svinja sa i bez promena na inspekciji mesa	116
Tabela 22 - Modifikovani UKMHS sistem ocene čistoće kože goveda	124
Tabela 23 - Uticaj vizuelne čistoće kože goveda na ukupan broj aerobnih bakterija i broj <i>Enterobacteriaceae</i> na koži	128
Tabela 24 - Uticaj vizuelne čistoće kože goveda na fekalnu kontaminaciju, TVC i EC na obrađenim trupovima i kriterijume procesne higijene	129
Tabela 25 - Uticaj vizuelne čistoće kože goveda na prisustvo <i>E. coli</i> O157 na koži i obrađenim trupovima	129
Tabela 26 - Mikroflora na goveđim kožama i korespodentnim obrađenim trupovima	141
Tabela 27 - Ocena procesne higijene u goveđim klanicama	143
Tabela 28 - Mikroflora na kožama svinja i korespodentnim obrađenim trupovima	144
Tabela 29 - Ocena procesne higijene u svinjskim klanicama	146
Tabela 30 - Identifikovani biološki hazardi u goveda koji se potencijalno mogu preneti na ljude alimentarnim putem (mlekom i/ili mesom)	155
Tabela 31 - Identifikovani biološki hazardi u goveda koji se prenose na ljude primarno ne-alimentarnim putem	155
Tabela 32 - Identifikovani biološki hazardi u svinja koji se potencijalno mogu preneti na ljude alimentarnim putem (mlekom i/ili mesom)	156
Tabela 33 - Identifikovani biološki hazardi u svinja koji se prenose na ljude primarno ne-alimentarnim putem	156

Tabela 34 - Incidencija bolesti izazvanih identifikovanim potencijalno alimentarnim hazardima	157
Tabela 35 - Težina posledica infekcije identifikovanim potencijalno alimentarnim hazardima	158
Tabela 36 - Prevalencija bioloških hazarda na ohlađenim trupovima goveda	159
Tabela 37 - Prevalencija bioloških hazarda na ohlađenim trupovima svinja	159
Tabela 38 - Povezanost goveđeg mesa kao izvora infekcije ljudi pojedinačnim hazardima (“source attribution“).....	160
Tabela 39 - Povezanost svinjskog mesa kao izvora infekcije ljudi pojedinačnim hazardima (“source attribution“).....	160
Tabela 40 - Poređenje performansi aktuelne inspekcije mesa i procesne higijene u goveđim klanicama	163
Tabela 41 - Poređenje performansi aktuelne inspekcije mesa i procesne higijene u svinjskim klanicama	164

LISTA GRAFIKONA

Grafikon 1 - Incidencija salmoneloze i kampilobakterioze u EU u periodu 2004-2009. godine	14
Grafikon 2 - Incidencija listerioze, bolesti izazvane sa VTEC i jerzinioze u EU u periodu 2004-2009. godine.....	19
Grafikon 3 - Hazardi u lancu ishrane	28
Grafikon 4 - Operativni aspekti LISA koncepta: primer lanac mesa.....	29
Grafikon 5 - Odnos sistema menadžmenta bezbednosti hrane i menadžmenta kvaliteta hrane	30
Grafikon 6 - Proces analize rizika	31
Grafikon 7 - Komponente analize rizika	32
Grafikon 8 - Faktori koji utiču na infektivnost patogena	37
Grafikon 9 - Ocena ekspozicije i karakterizacija hazarda u karakterizaciji rizika	39
Grafikon 10 - Generički okvir za upravljanje rizikom	42
Grafikon 11 - Koncept <i>Codex Alimentarius</i> -a u upravljanju rizikom.....	49
Grafikon 12 - FSO kao veza kontrole bezbednosti hrane na nivou sa upravljanjem bezbednošću hrane na nivou poslovanja hranom	51
Grafikon 13 - Propisi „Higijenskog paketa 2004“	55
Grafikon 14 - Stadijumi u „FCI ciklusu“ u UK	61
Grafikon 15 - Stablo odlučivanja kod postmortalnog pregleda u slučaju da životinja nije sumnjiva na osnovu provere informacija iz lanca hrane i premortalne inspekcije	64
Grafikon 16 - Stablo odlučivanja kod postmortalnog pregleda u slučaju da je životinja sumnjiva na osnovu provere informacija iz lanca hrane i premortalne inspekcije	64
Grafikon 17 - Način cirkulisanja podataka potrebnih za dobijanje Izveštaja o zoonozama u EU za određenu godinu	85
Grafikon 18 - Odgovor akutne faze.....	88
Grafikon 19 - Karakterizacija rizika od hazarda u goveda na nivou ohlađenih trupova.....	161
Grafikon 20 - Karakterizacija rizika od hazarda u svinja na nivou ohlađenih trupova.....	162
Grafikon 21 - Glavni elementi osiguranja bezbednosti mesa trupova u pogledu bakterijskih patogena	177
Grafikon 22 - Glavni elementi osiguranja bezbednosti mesa trupova u pogledu parazitskih patogena	178

LISTA SLIKA

Slika 1 - Set za određivanje koncentracije serumskog haptoglobina (a) i upotrebljena test pločica (b).....	112
Slika 2 - Najčešće detektovana stanja prilikom inspekcije mesa: veliki metilj u jetri goveda (a) i pneumonija svinja (b).....	114
Slika 3 - Kategorije vizuelne čistoće goveda prema UKMHS sistemu ocene: kategorija 1 (a), kategorija 2 (b), kategorija 3 (c), kategorija 4 (d) i kategorija 5 (e) (FSA, 2002).....	125
Slika 4 - Aseptični celulozni sušeri korišćeni za uzorkovanje kože i trupa: pripremljeni za uzorkovanje (a), tokom uzorkovanja (b) i tokom obrade uzorka u laboratoriji (c).....	126
Slika 5 - Uzimanje brisa kože goveda (a) i korespodentnog trupa (b).....	126
Slika 6 - Petrifilmovi za utvrđivanje TVC (a) i EC (b).....	138
Slika 7 - Brzi imunohromatografski test za utvrđivanje prisustva <i>E. coli</i> O157: pozitivna (a) i negativna reakcija (b).....	138
Slika 8 - Tipične kolonije <i>Salmonella</i> spp. na SH agaru (a) i XLD agaru (b).....	139
Slika 9 - Biohemijska (a) i serološka confirmacija (b) <i>Salmonella</i> spp.....	139

LISTA SKRAĆENICA

ACTH	Adrenocorticotrophic hormone
AFNOR	Association Francaise de Normalisation
AGP	Alfa 1-acid glicoprotein
Alb	Albumin
ALOP	Appropriate Level of Protection
AOAC	Association of Analytical Communities
APP	Acute phase protein
BSE	Bovine Spongiform Encephalopathy
BVD	Bovine Viral Diarrhoea
CAC	<i>Codex Alimentarius</i> Commission
CCP	Critical Control Point
CFU	Colony Forming Unit
CNS	Central nervous system
Cp	Ceruloplasmin
CRP	C-reactive protein
EC	<i>Enterobacteriaceae</i> Count
EC	European Commission
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EEA	European Economic Area
EFSA	European Food Safety Authority
EFTA	European Free Trade Association
EU	European Union
FAO	Food and Agriculture Organization
Fb	Fibrinogen
FCI	Food chain information
FSA	Food Standards Agency
FSC	Food Safety Criterion
FSO	Food Safety Objective
FSP	Food Safety Policy
GFP	Good Farming Practice
GHP	Good Hygienic Practice
GMP	Good Manufacturing Practice
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Point
HAS	Hygiene Assessment System
HIV	Human immunodeficiency virus
Hp	Haptoglobin
HUS	Hemolytic-uremic syndrome
ICMSF	International Commission on Microbiological Specifications for Foods
IFN	Interferon
IL	Interleukin
ISO	International Organization for Standardization
LISA	Longitudinal Integrated Safety Assurance
LM	<i>Listeria monocytogenes</i>
log	logarithm
MC	Microbiological Criterion
MHS	Meat Hygiene Service
MRA	Microbiological Risk Assessment

NASA	National Aeronautics and Space Administration
OIE	Office International des Epizooties
PAHO	Pan American Health Organization
PC	Performance Criterion
PCB	Polychlorinated biphenyl
PCN	Polychlorinated naphthalene
PGE₂	Prostaglandin E ₂
PHC	Process Hygiene Criterion
PMWS	Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome
PO	Performance Objective
PrC	Process Criterion
PRRS	Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome
QA	Quality Assurance
QMRA	Quantitative Microbiological Risk Assessment
RTE	Ready to eat
SAA	Serum amyloid A
SCVPH	Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health
SITT	Single Intradermal Tuberculin Test
SPF	Specific Pathogen Free
TESSy	The European Surveillance System
Tf	Transferin
TGF	Transforming growth factor
TVC	Total Viable Count
TQM	Total Quality Management
UK	United Kingdom
USA	United States of America
USDA	United States Department of Agriculture
VLA	Veterinary Laboratories Agency
VTEC	Verotoxigenic <i>Escherichia coli</i>
WHO	World Health Organization
WTO	World Trade Organization
ZCC	Zoonoses Collaboration Centre

I - OPŠTI UVOD

Alimentarne zoonotske bolesti ljudi danas, na početku 21. veka, predstavljaju globalni problem javnog zdravlja - u industrijalizovanim zemljama, godišnje do jedne desetine populacije pati od njih (Kaferstein *et Abdussalam*, 1999; Schlundt *et al.*, 2004). Najčešći uzročnici ovih bolesti su zoonotski, biološki agensi: patogeni mikroorganizmi uključujući netifoidne *Salmonella* spp., termofilni *Campylobacter* spp., *Yersinia enterocolitica*, verocitotoksične *Esherichia coli* i *Listeria monocytogenes*, kao i paraziti uključujući *Toxoplasma gondii* (EFSA, 2011a). Meso i proizvodi od mesa su vrlo značajan izvor ovih zdravstvenih hazarda (Norrung *et Buncic*, 2008), a za neke su i jedini izvor. Stoga, biološkoj bezbednosti mesa se tradicionalno posvećuje velika pažnja i u javnom zdravlju i u lancu hrane. Klanice imaju veoma važnu ulogu u biološkoj bezbednosti mesa, jer one predstavljaju jednu od ključnih tačaka na kojima dolazi do značajne kontaminacije mesa mnogim biološkim hazardima, ali istovremeno je moguće i implementirati efikasne mere za redukciju bioloških, zoonotskih alimentarnih rizika za ljude.

Tradicionalni sistem upravljanja biološkim rizicima po bezbednost mesa uglavnom se oslanjao na veterinarsku inspekciju mesa i laboratorijsko testiranje finalnog proizvoda (mesa) u uslovima gde nadležni organi manje ili više detaljno propisuju proizvođačima način rada. Procedure inspekcije mesa bazirane na makroskopskom, organoleptičkom pregledu su razvijene sredinom 19. veka. Nema sumnje da su tada bile „visoko zasnovane na riziku“, jer su specifično dizajnirane za detekciju klasičnih zoonotskih bolesti u životinja, poput tuberkuloze, trihineloze i tenijaze, koje su tada predstavljale najveće opasnosti po zdravlje ljudi koji su konzumirali meso (Edwards *et al.*, 1997). Međutim, priroda problema prisustva zoonotskih agenasa u životinja za klanje se od tada značajno promenila. Unapređenje stočarske prakse, naročito u drugoj polovini 20. veka u razvijenijim zemljama, uključujući poboljšanje biosigurnosti, korišćenje preventivnih, dijagnostičkih i terapijskih sredstava u gajenju životinja, je uticalo na poboljšanje zdravlja i prirasta životinja i skratilo vreme njihovog odgoja. Mnoge bolesti životinja, a naročito navedene klasične zoonotske bolesti, su vremenom ili iskorenjene ili znatno redukovane, čemu je značajno i doprinela inspekcija mesa (Berends *et al.*, 1993). S druge strane, intenzivni sistem gajenja životinja je doveo do velikog povećanja broja relativno mladih i klinički zdravih životinja koje dolaze na klanje, odnosno grupa životinja zajedničke genetske osnove i predistorije. Međutim, među takvim životinjama dolazi do povećanja prenošenja i učestalosti nekih supkliničkih infekcija i/ili fekalnog izlučivanja zoonotskih agenasa bez ikakvih simptoma koje je nemoguće otkriti tradicionalnom inspekcijom mesa (Grossklaus, 1987). Ova pojava je, svakako, značajno

uticala i na globalnu promenu značajnosti alimentarnih hazarda za zdravlje ljudi koji se prenose mesom: redukciju klasičnih zoonoza i veliku ekspanziju odnosnih bolesti - poput salmoneloze i kampilobakterioze.

Problem sa hazardima koje je nemoguće detektovati tradicionalnom inspekcijom mesa („nevidljivi“ hazardi) nije mogao da reši ni drugi element tradicionalnog sistema bezbednosti mesa - laboratorijsko ispitivanje gotovog proizvoda. Naime, nije moguće laboratorijski testirati meso na sve „nevidljive“ hazarde, a za statistički značajne i pouzdane rezultate u pogledu samo jednog biološkog hazarda bilo bi potrebno ispitivati ogroman broj uzoraka – što je sporo, skupo, nepraktično. Čak i kada bi bilo izvodljivo takvo testiranje, na kraju ipak ne bi bilo moguće garantovati odsustvo tog patogena, jer se bilo koji laboratorijski rezultat odnosi samo na testirani uzorak (a ne na druge delove zaklane životinje) i ograničen je osetljivošću raspoložive metodologije testiranja. Slabosti tradicionalnog sistema uključuju i njegovu reaktivnu prirodu - problemi sa bezbednošću mesa najčešće se konstatuju tek nakon što su se oni desili i, stoga, sistem se bavi posledicama a ne predupređivanjem uzroka problema (Buncic, 2006).

Stoga se, ukupno, danas smatra da tradicionalni sistem – iako je istorijski pružio veliki doprinos u osiguranju bezbednosti mesa kontrolom klasičnih zoonotskih bolesti - više nije dovoljan za adekvatno osiguranje zdravlja ljudi od alimentarnih hazarda i da je neophodno njegovo značajno unapređenje (Hathaway *et* McKenzie, 1991; Berends *et al.*, 1996). U tom cilju, u novije vreme, pažnja je usmerena na razvoj i korišćenje modernog, modifikovanog sistema bezbednosti u kome je glavni fokus na higijeni proizvodnih procesa i prevenciji kontaminacije mesa hazardima za koje se ocenjuje da predstavljaju najznačajnije alimentarne rizike za potrošače. Proaktivni pristup higijeni mesa zahteva da se kontrolne mere – prevažodno preventivne prirode - primenjuju na onim tačkama (često multiplim) u lancu hrane gde će proizvesti najveći doprinos redukovanju tih rizika. Ovaj pristup je zasnovan na naučno validnim informacijama koje se koriste za adekvatnu identifikaciju i karakterizaciju relevantnih hazarda i ocenu rizika od njih. Uspešnost takvih savremenih programa osiguranja bezbednosti mesa se demonstrira pokazivanjem: a) u kom stepenu je svaki od hazarda u mesu stvarno kontrolisan; i b) kakav je odnos postignutog stepena kontrolisanosti hazarda prema prethodno postavljenim nivoima zaštite zdravlja potrošača. U savremenom sistemu, fokus je na kontrolnim merama koje formuliše i implementira sam proizvođač koji snosi odgovornost za njihovu merljivu uspešnost, dok je u tradicionalnom sistemu, fokus na formulisanju

detaljnih, preskriptivnih mera od strane regulatornih organa koji ne snose odgovornost za njihovu uspešnost niti se egzaktno prati njihov krajnji efekat na javno zdravlje.

Iz navedenih razloga, savremeni sistem bezbednosti mesa mora koristiti integrisani i longitudinalni pristup baziran na analizi rizika i korišćenju instrumenata kojima se kako prate glavni trendovi hazarda u lancu mesa i odnosnih bolesti u ljudi (na primer, monitoring i nadzor) tako i vrši neposredna kontrola hazarda i povezanih zdravstvenih rizika (na primer, preduslovni GMP/GHP programi i HACCP). U tom pristupu, samo koordinisanim aktivnostima na svakoj tački lanca mesa („od farme do trpeze“) moguće je postići kako smanjenje mikrobioloških rizika na datim individualnim tačkama, tako i kumulativne, ukupne, pozitivne efekte na nivou finalnog proizvoda koji ljudi konzumiraju (Buncic, 2006). Ovaj modernizovani pristup je podržan od svih relevantnih naučnih i regulatornih faktora na međunarodnom planu, a njegovi opšti principi su uključeni i u novu legislativu u svim razvijenim zemljama uključujući i EU kroz „higijenski paket“ propisa donetih 2004. godine.

Ipak, do danas, pomenuta legislativa daje samo smernice za generalni okvir ovakvog sistema, ali ne pruža informaciju o načinima kako pomenuti opšti principi treba da se pretoče u realnu praksu. Glavni razlog tome je činjenica da su i naučna saznanja u toj oblasti danas još uvek ograničena, uključujući i u pogledu egzaktne ocene rizika po bezbednost mesa i optimalne načine njihove redukcije na klanicama. Iz tih razloga, istraživanja u okviru ove disertacije su imala za glavni cilj da – na nivou klanica za goveda i svinje - doprinesu daljem unapređenju modernog sistema bezbednosti mesa kroz: a) bolje razumevanje i prioritizaciju bioloških rizika po bezbednost mesa; b) razvijanje i optimizaciju objektivnijih i merljivijih indikatora tih rizika; i c) objektivnije sagledavanje performansi glavnih kontrolnih opcija za te rizike.

II - PREGLED LITERATURE

II - 1. PREGLED PODATAKA O DANAŠNJEM STANJU BEZBEDNOSTI MESA

Meso je jedan od najznačajnijih izvora alimentarnih oboljenja ljudi. Na zdravlje ljudi koji konzumiraju meso mogu da utiču brojni biološki, hemijski i fizički hazardi koji se mogu naći u mesu, ali je opšte prihvaćeno da najveći rizik danas predstavljaju biološki hazardi uključujući mikrobiološke (Berends *et al.*, 1993; Pointon *et al.*, 2006). Mikrobiološki hazardi prisutni u mesu su u velikom broju slučajeva zoonotske prirode, odnosno potiču od životinja za klanje. Neki od ovih zoonotskih mikroorganizma izazivaju makroskopski vidljive kliničke promene i/ili patološke lezije u životinja za klanje, dok drugi mogu da budu prisutni u/na zdravim životinjama. Pored toga, neki mikrobiološki hazardi mogu da dospeju u meso od zaraženih/kontaminiranih ljudi koji rukuju hranom ili iz okoline.

Od 2004. godine, kada je ustanovljen sistem sistematskog prikupljanja podataka o zoonozama i zoonotskim agensima na EU nivou i njihovog objavljivanja u godišnjim izveštajima, svake godine se beležilo približno 350 do 400 hiljada slučajeva alimentarnih bolesti ljudi (EFSA, 2006; EFSA, 2007a; EFSA, 2008a; EFSA, 2009; EFSA, 2010a; EFSA, 2011a). Među ovim zoonotskim bolestima, najveći udeo imaju salmoneloza i kampilobakterioza, zatim slede jerzinioza, bolest izazavana verocitotoksičnom *E. coli* i listerioza, a tu su i druge bolesti koje se ređe javljaju, poput parazitoza trihineloze i toksoplazmoze (Tabela 1). Neke od ovih bolesti mogu da imaju teške, nekad i dugoročne, posledice po zdravlje ljudi uključujući i fatalni ishod.

Meso i proizvodi od mesa su za neke od ovih bolesti najvažniji (za neke i jedini) izvor, a za druge manje značajan izvor. Međutim, znanje o tome koliki je kvantitativni udeo mesa - naspram ostalih vrsta hrane, vode i životne sredine - kao izvora ovih bolesti je prilično ograničeno (Norrung *et Buncic*, 2008). Kvantitativno utvrđivanje relativnog značaja određene vrste hrane ili životinje kao izvora date bolesti čoveka se naziva „pripisivanje izvora bolesti čoveka“ (“*human illness source attribution*”). Nekoliko pristupa, baziranih na različitim vrstama podataka, se koristi danas: podtipiziranje (“*subtyping*”) mikroorganizama, analiza podataka iz istraživanja epidemija, studije kontrole slučajeva (“*case control studies*”), ocena ekspozicije u okviru ocene rizika itd. (Batz *et al.*, 2005).

U pogledu mesa najvažnijih vrsta domaćih životinja, analiza epidemija alimentarnih oboljenja u EU u 2008. godini, izazvanih zoonotskim agensima koji su uključeni u EU monitoring, je ukazala da su svinjsko meso i proizvodi od njega bili izvor za 10.2% epidemija, goveđe meso i proizvodi od njega za 2.1%, a meso i proizvodi od mesa brojlera za

3.7% (EFSA, 2010a). Međutim, u 2007. godini, situacija je bila obrnuta - meso brojlera je bilo izvor za 17.8%, a meso svinja za 0.9% epidemija alimentarnih oboljenja (EFSA, 2009).

Tabela 1 - Ukupan broj potvrđenih slučajeva bolesti obuhvaćenih monitoringom zoonotskih agenasa u EU u periodu 2004-2009. godine

UZROČNIK	Godina					
	2009.	2008.	2007.	2006.	2005.	2004.
<i>Salmonella</i>	108,614	131,468	152,001	164,011	174,544	195,947
<i>Campylobacter</i>	198,252	190,566	200,507	175,561	195,426	183,479
<i>Listeria</i>	1,645	1,381	1,554	1,590	1,443	1,281
VTEC	3,573	3,159	2,905	3,357	3,269	2,356
<i>Yersinia</i>	7,595	8,346	8,988	9,142	9,508	10,213
<i>Trichinella</i>	748	670	780	706	175	261
<i>Toxoplasma gondii</i>	1259	np	np	np	np	np
<i>Mycobacterium bovis</i>	np	115	107	120	123	102

Izvor: EFSA, 2011a; np - nema zvaničnih podataka

1.1. Salmoneloza

Salmonella se već decenijama smatra jednim od najvažnijih patogena koji ima veliki zdravstveni značaj u ljudi i životinja, a izaziva i značajne ekonomske posledice. Rod *Salmonella* je podeljen na dve vrste: *S. enterica* i *S. bongori*. *S. enterica* je dalje podeljena na šest podvrsta i većina *Salmonella* pripada podvrsti *S. enterica* subsp. *enterica*. Stepenn adaptacije prema domaćinu se razlikuje između vrsta i serotipova ove bakterije. Neke vrste su adaptirane za ljude (*S. typhi* i *S. paratyphi*) i izazivaju teško oboljenje septikemično-tifoidne forme (crevna groznica), ali ne i u životinja; te nezoonotske vrste neće biti predmet daljeg razmatranja u ovom radu. Druge vrste su visoko prilagođene na životinje (*S. gallinarum* u živine; *S. cholerae-suis* u svinja; *S. Dublin* u goveda), mada neke od njih mogu i da izazovu oboljenje ljudi. U okviru problematike kojom se bavi ova disertacija, najvažniji su zoonotski tipovi koji izazivaju alimentarne infekcije u ljudi (*S. Typhimurium* i *S. Enteritidis*).

Salmonella u životinja za proizvodnju mesa. Glavni rezervoar *Salmonella* spp. je gastrointestinalni trakt sisara i ptica. Najčešće, subklinički inficirane životinje fekalno izlučuju (stalno ili povremeno) ove mikroorganizme koji se lako dalje šire u stadu ili jatu (često neopaženo). S druge strane, inficirane životinje nekad pokazuju znake bolesti, na primer groznica, dijareja ili pobačaj u krava (Stadler *et* Nesbit, 1990), dok *Salmonella* u

stadima teladi može da izazove dijareju sa visokim mortalitetom. U svinja, groznica i dijareja su ređe nego u goveda, a u ovaca, koza i živine uglavnom se ne zapažaju (Radostits *et al.*, 2007).

Mnoge zemlje članice EU primenjuju programe kontrole ili nadzora za *Salmonella* u različitim vrsta farmskih životinja. Obavezni kontrolni program za *Salmonella* (sojeve *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Virchow* i *S. Hadar*) elitnih, dedovskih i roditeljskih jata za proizvodnju brojlera i jata brojlera (Regulativa EC 2160/2003) obezbeđuje relativno uporedive podatke u okviru cele EU, jer se koriste slični planovi uzorkovanja. U 2009. godini na nivou cele EU, utvrđeno je da je 5% testiranih jata brojlera bilo pozitivno na *Salmonella* spp., a 0.7% pozitivno na *S. Enteritidis* ili *S. Typhimurium* (EFSA, 2011a). Postoje velike varijacije među članicama EU po pitanju prevalencije *Salmonella* u brojlera. Ipak, većina je još u 2009. godini ispunila cilj propisan Regulativom EC 646/2007 od maksimalno 1% jata brojlera pozitivnih na sojeve *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium*, a koji treba da se ostvari u svakoj članici do kraja 2011. godine. Nekoliko članica EU, uglavnom zemlje koje imaju generalno veći problem sa ovim patogenom (na primer, Italija i Španija), vrši aktivan monitoring *Salmonella* u svinja i goveda na nivou farme (testiranjem fecesa) i klanice (testiranjem limfnih čvorova). U 2008. i 2009. godini, postojale su velike varijacije u pozitivnim nalazima *Salmonella*, ne samo među državama, već i prema životinjskim vrstama i mestima uzorkovanja: pozitivnih uzoraka je bilo od oko 2% (na farmi) do oko 40% (u klanici) kod svinja, a od oko 1.5% (na farmi) do oko 28% (u klanici) kod goveda (EFSA, 2010a; EFSA, 2011a).

Salmonella u mesu. Ove bakterije mogu da se nađu u mnogim vrstama namirnica, a najčešći izvor infekcije ljudi su jaja, a potom meso i proizvodi od mesa. U pogledu mesa, *Salmonella* se najčešće nalazi u mesu živine (u svim fazama proizvodnje), zatim u svinjskom mesu, a ređe u goveđem. Kontaminacija sirovog mesa sa *Salmonella* je uglavnom posledica direktne ili posredne (unakrsne) fekalne kontaminacije tokom klanja i obrade trupova (Borch *et al.*, 1996; Botteldoorn *et al.*, 2003).

U EU, u 2009. godini je 5.4% svih testiranih uzoraka mesa brojlera (klanica, prerada, prodaja) bilo pozitivno na *Salmonella* (EFSA, 2011a), a u 2008. godini 5.1% (EFSA, 2010a). Po pitanju serovara u mesu brojlera, situacija se razlikuje među članicama EU, ali i među godinama izveštavanja. Generalno, *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium* su najčešći, ali prisutni su

i *S. Infantis*, *S. Paratyphi B* var. Java, *S. Kentucky* itd., sa predominantnošću nekih od serovara u pojedinim državama.

Kada je reč o mesu svinja i proizvodima od njega, mnogi od nacionalnih monitoring programa za *Salmonella* u svinjskom mesu su bazirani na testiranju mesa iz klanica i objekata za rasecanje mesa. Sveukupno, u EU je u 2009. godini 0.7% testiranih uzoraka svinjskog mesa bilo pozitivno na ovaj patogen, a 2008. godini 0.8% (EFSA, 2011a), što je manje nego prethodnih godina. Ipak, važno je napomenuti da se situacija bitno razlikuje među državama; npr. neke od njih su izvestile da nije bilo *Salmonella* pozitivnih uzoraka u klanici, a neke da je bilo i do četvrtine pozitivnih. Prisustvo na svinjskom mesu u prodaji takođe varira među članicama, ali je uglavnom korespondentno prisustvu na klanici. *S. Typhimurium* i *S. Derby* su najčešće izolovani serovari u svinjskom mesu poslednjih godina u EU.

Kao i kada je u pitanju meso svinja, mnogi od nacionalnih monitoring programa za *Salmonella* u govedem mesu su bazirani na testiranju mesa iz klanica i objekata za rasecanje mesa. U proseku, u 2009. i 2008. godini u EU je 0.2% svih testiranih uzoraka govedeg mesa u svim fazama lanca hrane bilo pozitivno (EFSA, 2010a; EFSA, 2011a), što je niže nego prethodnih godina, ali opet sa velikim razlikama među zemljama članicama. Od kada se sprovodi sistem monitoringa na nivou EU, *S. Typhimurium* i *S. Dublin* su najčešće detektovani serovari u govedem mesu.

Salmoneloza ljudi. Uopšte, *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium* su serovari koji najčešće izazivaju alimentarnu salmonelozu ljudi. Najčešće, slučajevi alimentarnih infekcija ljudi sa *S. Enteritidis* vezani za jaja i meso brojlera, dok oni sa *S. Typhimurium* za svinjsko, živinsko i govede meso (EFSA, 2011a).

Salmoneloza ljudi se uglavnom karakteriše akutnom groznicom, abdominalnim bolom, mučninom i ponekad povraćanjem. Simptomi su često blagi i većina infekcija traje do nekoliko dana i spontano prolazi. Međutim, nekad infekcija može da bude ozbiljnija i dehidracija koja se tada javlja može da bude opasna po život. U tim slučajevima, kao i kada se javi septikemija, neophodno je lečenje efikasnim antimikrobnim lekovima na koje ove bakterije nisu rezistentne. Salmoneloza često može da ostavi neke trajne posledice na zdravlje čoveka, poput reaktivnog artritisa (Leirisalo Repo *et al.*, 1997).

Godinama, incidencija salmoneloze u EU (Grafikon 1) je najviša u dece do četiri godine starosti - preko 110 slučajeva/100000 je potvrđeno svake godine (EFSA, 2008a; EFSA, 2009; EFSA, 2010a, EFSA, 2011a), a sledeća najugroženija starosna grupa je 5-14

godina. Najveći broj slučajeva se prijavljuje tokom leta i rane jeseni. Procenjuje se da je u 2009. godini u EU oko 90 ljudi umrlo od salmoneloze, među 108614 potvrđenih slučajeva (EFSA, 2011a). U Srbiji, prema izveštajima za period 1999-2006. godine, incidencija ove bolesti je varirala od 30.6-53.6/100000 ljudi godišnje (EC, 2009), što je bilo generalno slično situaciji u EU.

Jaja predstavljaju najčešći izvor salmoneloze ljudi - procenjuje se da je, kada je izvor infekcije poznat, 58% slučajeva ove bolesti vezano za jaja (Pires *et al.*, 2010); u 2009. godini u EU, od svih verifikovanih epidemija salmoneloze, jaja su bila izvor za 49.1% epidemija (EFSA, 2011a). Procenjuje se da je 10-20% slučajeva salmoneloze u EU izazvano konzumacijom svinjskog mesa (EFSA, 2010b). Međutim, ova procena svakako varira među državama, zavisno od prevalencije ovog patogena u svinjama i svinjskom mesu, navikama u ishrani i pripremanju hrane, kao i relativnom značaju drugih izvora salmoneloze poput jaja i mesa brojlera. U 2009. godini su svinjsko meso i proizvodi od njega bili izvor za 3.7% svih epidemija salmoneloze, meso brojlera i proizvodi od njega za 5.2% a goveđe meso za 3.1% epidemija (EFSA, 2011a). U Danskoj je u 2008. godini zabeležena epidemija izazvana sa *Salmonella* Typhimurium (EFSA, 2010a); obolelo je ukupno 1224 ljudi, a glavna hipoteza je bila da su svinje glavni izvor infekcije, ali su infekcije ljudi nastajale preko nekoliko vrsta namirnica. Iste godine, u Švajcarskoj se desila epidemija salmoneloze sa 150 obolelih, a veruje se da je svinjsko meso bilo izvor infekcije. U Španiji je 2005. godine preko 2700 ljudi obolelo od *S. Hadar* nakon konzumiranja pečene piletine pakovane u vakuumu; proizvod je zatim povučen sa tržišta i još veća epidemija je izbegnuta (EFSA, 2007a). U Češkoj je 2008. godine zabeležena epidemija *S. Enteritidis* PT8 za koju je utvrđeno da je nastala preko jaja – 102 čoveka su obolela, 16 je hospitalizovano a jedan je završio fatalno (EFSA, 2010a), a u Belgiji je 2006. godine zabeležena epidemija *S. Enteritidis* PT21 – 59 ljudi je obolelo, od toga 28 ljudi je hospitalizovano a pačestina u jednom restoranu je identifikovana kao izvor epidemije (EFSA, 2008a).

Na globalnom planu, salmoneloza je u periodu 2005-2009. godine druga alimentarna bolest ljudi u EU po broju slučajeva, a primetan je trend opadanja od 2004. do 2009. godine: godišnji broj slučajeva sa oko 196000 na 108000, a incidencija sa 42 na 24/100000 (Grafikon 1). Za ovo su najviše zaslužni kontrolni programi za *Salmonella* koji su sprovedeni u EU na nivou farme, pre svega kod kokoški nosilja (jaja su najčešći izvor ove bolesti u ljudi).

1.2. Kampilobakterioza

Glavne vrste koje izazivaju ovu alimentarnu infekciju ljudi su *C. jejuni* i *C. coli*, ali i *C. lari* i druge vrste. Ovo su termofilne bakterije koje se ne razmnožavaju na ispod 30°C i ne preživljavaju temperature pasterizacije. Glavni izvor ove infekcije ljudi je živinsko meso, nedovoljno termički tretirano ili termički tretirano i potom unakrsno kontaminirano. Takođe, infekcije se dešavaju i nakon kontakta sa živom živinom i kućnim ljubimcima, kao i drugim životinjama. Pored toga, sirovo mleko i kontaminirana voda za piće su bili izvor nekih velikih epidemija kampilobakterioze ljudi (EFSA, 2008a; EFSA, 2011a).

Campylobacter u životinja za proizvodnju mesa. Termofilni *Campylobacter* spp. je široko rasprostranjen u prirodi, a glavni rezervoar je alimentarni trakt divljih i domaćih ptica i sisara (Moore *et al.*, 2005): najčešće živine (Bull *et al.*, 2006), potom svinja (Boes *et al.*, 2005), goveda i ovaca (Stanley *et Jones*, 2003), ali i kućnih ljubimaca i divljih ptica (Franco *et Williams*, 2001). Životinje retko pokazuju znake kampilobakterioze (Radostits *et al.*, 2007); na primer, *C. jejuni* može da dovede do pobačaja krava (Van Donkersgoed *et al.*, 1990).

U pogledu živine, u 2009. godini u EU je bilo 20.5%, a u 2008. 24.7% *Campylobacter* pozitivnih jata brojlera (varijacije među državama od oko 4% pa do oko 80% pozitivnih), što je vrlo slično nalazima prethodnih godina (EFSA, 2008a; EFSA, 2009; EFSA, 2010a; EFSA, 2011a). U EU, od testiranih svinja (pojedinačne životinje), u proseku 50.5% je bilo pozitivno u 2009. a 57.7% je bilo pozitivno u 2008. godini (3.2%-67.8% među članicama); od testiranih goveda (pojedinačne životinje) u proseku 7.9% i 9.8% životinja je bilo pozitivno u 2009. i 2008. godini (EFSA, 2010a; EFSA, 2011a). Važno je imati na umu sezonske varijacije u prevalenciji *Campylobacter* u samih životinja, a posledično i u mesu - leti je prevalentnije nego zimi (Willis *et Murray*, 1997). Najčešće izolovana vrsta u živine i goveda je *C. jejuni*, dok je kod svinja dominantan *C. coli*.

Campylobacter u mesu. Pošto je prisutan u fecesu životinja nosioca, neizbežno tokom njihovog klanja i obrade dolazi do direktne ili indirektno kontaminacije izvesnog procenta trupova sa *Campylobacter* (Izat *et al.*, 1988; Berrang *et al.*, 2001). Stoga, problem *Campylobacter* u sirovom mesu uglavnom je povezan sa procesnom higijenom u klanicama. Iako je prevalencija u fecesu živine i životinja za proizvodnju crvenog mesa na farmi - naročito svinja - slična, ovaj hazard se znatno češće nalazi na obrađenim trupovima živine u

odnosu na obrađene trupove svinja ili goveda, a posledično je prevalencija veća i u živinskom mesu u fazama prerade i prodaje u odnosu svinjsko ili goveđe meso (Norrung *et al.*, 2009; EFSA, 2011a). Uzrok ovoga nije do kraja razjašnjen, mada je najverovatnije vezan za povećanu fekalnu ekskreciju *Campylobacter* za vreme transporta živine do klanice i posledičnu unakrsnu kontaminaciju. Takođe, relativno kratko vreme od klanja živine do pakovanja (kratko hlađenje) omogućava bolje preživljavanje ovog patogena na mesu, ali je bitna i znatno manja/ređa fekalna kontaminacija trupova prilikom evisceracije u klanicama papkara u odnosu na živinske klanice. Posebno je značajno da su relativno suvlje površine mesa trupova svinja i goveda (dehidracija površina mesa za vreme hlađenja trupova), koje nisu pogodne za preživljavanje *Campylobacter* (Oosterom *et al.*, 1983; FAO/WHO, 2009b; Norrung *et al.*, 2009).

U klanici, prilično visok procenat pozitivnih trupova brojlera je zabeležen u 2009. u EU, ali i uz velike varijacije među članicama (Estonija 6.3%, Španija 95.8%) (EFSA, 2011a); *C. jejuni* je dominantniji od *C. coli*, a povremeno se izoluje i *C. lari*. Podaci o testiranju sirovog svinjskog i goveđeg mesa u prodaji ukazuju na to da je ono vrlo retko bilo kontaminirano sa *Campylobacter* spp. u periodu 2006-2009. godine većini članica EU (EFSA, 2008a; EFSA, 2009; EFSA, 2010a; EFSA, 2011a).

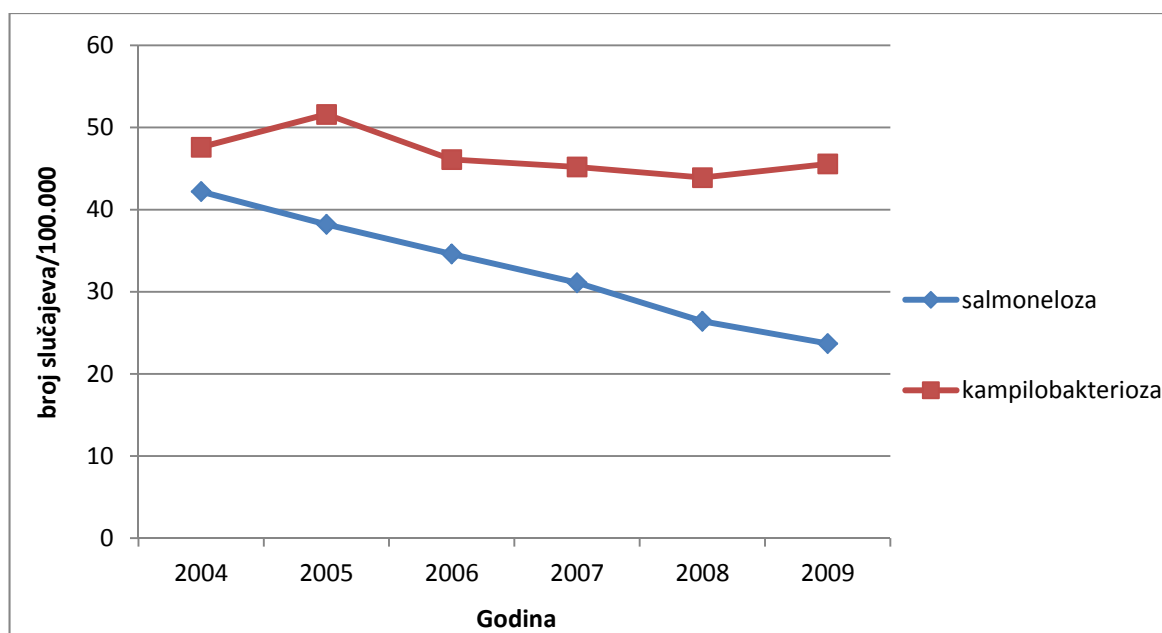
Kada je reč o proizvodima od mesa, uključujući mleveno meso i poluproizvode od mesa, u periodu 2006-2009. godine *Campylobacter* se najviše nalazio u ovim proizvodima od živinskog mesa; znatno više u odnosu na proizvode od svinjskog ili goveđeg mesa (EFSA, 2008a; EFSA, 2009; EFSA, 2010a; EFSA, 2011a).

Kampilobakterioza ljudi. Termofilni *Campylobacter* spp. se smatra vodećim uzročnikom bakterijskog gastroenteritisa ljudi u razvijenim zemljama (Olson *et al.*, 2008), a meso živine najvažnijim izvorom ovog patogena. Inkubacija ove bolesti traje 2-5 dana, a zatim se ispoljavaju simptomi, koji mogu biti blaži ili ozbiljni: uglavnom vodenasta, ali ponekad i krvava dijareja, abdominalni grčevi, groznica, glavobolja i mučnina (Skirrow *et Blaser*, 2000). Uglavnom, bolest traje nekoliko dana i spontano prolazi, ali u oko jedne petine ljudi bolest traje jednu do tri nedelje (Allos *et Blaser*, 1995). Ređe se jave ekstraintestinalni poremećaji ili komplikacije poput reaktivnog artritisa i nervnih poremećaja – paralize, ataksije i arefleksije (FAO/WHO, 2009b). *C. jejuni* se smatra najvažnijim prekursorom *Guillain-Barre* sindroma, koji može da rezultira respiratornim i ozbiljnim nervnim poremećajima, pa čak i smrću (Hannu *et al.*, 2002; Hughes *et Cornblath*, 2005).

Kao i u slučaju salmoneloze, u periodu 2006-2009. godine, najveća incidencija kampilobakterioze je bila u dece starosti do četiri godine (EFSA, 2008a; EFSA, 2009; EFSA, 2010a; EFSA, 2011a) i iznosila je uvek preko 105 slučajeva na 100000 populacije, dok je u preostalim starosnim grupama incidencija podjednaka. Takođe, primetno je da se najveći broj slučajeva bolesti dešava u toplijim periodima godine. Procenjuje se da je u 2009. godini 40 ljudi umrlo od ove bolesti u EU (EFSA, 2011a).

U verifikovanim epidemijama kampilobakterioze u EU u 2008. godini (ukupno 488), meso i proizvodi od mesa brojlera su bili izvor u 28.6% epidemija, ostale vrste živinskog mesa u manje od 9.5%, a u preko 38% epidemija izvor infekcije je bio nepoznat (EFSA, 2010a). U Danskoj je 2006. godine 23 zaposlenih u jednoj firmi obolelo od kampilobakterioze nakon konzumiranja ribe i krompira u kantini; ove namirnice su držane u frižideru ali se na njih sa gornje police cedio sok sa kontaminirane sirove piletine (EFSA, 2008a). U skorijoj studiji je procenjeno da, kada je hrana-izvor kampilobakterioze ljudi poznata, u 29% slučajeva izvor bolesti je živinsko meso (Pires *et al.*, 2010).

Neke članice EU su implementirale posebne kontrolne programe za *Campylobacter*, što je i dalo rezultate vidljive kroz trend smanjenja u broju *Campylobacter* pozitivnih jata brojlera poslednjih godina u tim zemljama. Međutim, nema statistički značajne promene trenda u EU vezano za slučajeve kampilobakterioze ljudi u periodu između 2004. i 2009. godine. Od 2005. do 2009. godine, kampilobakterioza je najčešće zabeležena alimentarna bolest u EU, sa 175 do 200 hiljada obolelih ljudi godišnje, odnosno sa incidencijom od oko 45-50/100000 (Grafikon 1). Nema većih promena u incidenciji ove bolesti na nivou EU u periodu od 2004. do 2009. godine („fluktuirajući trend“), a glavni razlog je veoma značajno smanjenje incidencije u pojedinim zemljama članicama, ali je istovremeno postojalo i izvesno (statistički značajno) povećanje incidencije u nekim drugim.



Grafikon 1 - Incidencija salmoneloze i kampilobakterioze u EU u periodu 2004-2009. godine

1.3. Listerioza

Rodu *Listeria* pripada šest vrsta bakterija, ali slučajevi ljudi obolelih od listerioze gotovo isključivo su vezani za vrstu *Listeria monocytogenes* (LM). *L. monocytogenes* su ubikvitarni mikroorganizmi, a glavni rezervoari su zemljište, hrana za životinje i voda, kao i feces klinički zdravih životinja i ljudi (Farber *et* Peterkin, 1991; Donnelly, 2001; Buncic *et* Avery, 2004; FAO/WHO, 2004b). Veruje se da je glavni put infekcije ljudi konzumacija kontaminirane hrane, kao i životinja putem hrane za životinje; međutim, infekcija čoveka može da nastane i direktnim kontaktom sa inficiranim životinjama ili ljudima (Mead *et al.*, 1999; FAO/WHO, 2004b). Termički tretman na temperaturama pasterizacije ubija ove bakterije. S druge strane, one mogu da se razmnožavaju pri temperaturama hlađenja hrane, čak i na 0°C, što je posebno važno za bezbednost hrane spremne za konzumiranje (*“ready to eat“*, u daljem tekstu „RTE hrana“) koja se relativno dugo čuva u frižideru. Efikasan režim higijene i sanitacije u objektima gde se rukuje hranom, kao i sprečavanje unakrsne kontaminacije RTE hrane, su dve ključne kontrolne mere za *L. monocytogenes* (FAO/WHO, 2004b).

Listeria monocytogenes u životinja za proizvodnju mesa. Kao što je navedeno, životinje koje nose ove bakterije u svojim crevima uglavnom ne pokazuju simptome bolesti, a ako se

listerioza i manifestuje (najčešće kod ovaca i koza) to je uglavnom sa znacima encefalitisa, pobačaja, mastitisa ili septikemije (Radostits *et al.*, 2007). U nekim studijama je utvrđeno da prevalencija u preživara može biti i do 50% (Norrung *et al.*, 2009), što je često povezano sa ishranom neadekvatno fermentovanom silažom (Kalac, 1982). Kada je reč o stadima životinja za proizvodnju mesa, 2008. godine u EU je zabeležena viša prevalencija *Listeria monocytogenes* u stadima preživara (goveda 1.1%; ovaca i koza po 3.6%), nego u krdima svinja (0.1%) i jatima živine (ispod 0.1%) (EFSA, 2010a).

Listeria monocytogenes u mesu. Opšte je prihvaćeno da koncentracija ove bakterije u hrani koja je manja od 100 CFU/g predstavlja vrlo nizak rizik za opštu populaciju koja konzumira tu hranu (Buncic *et Avery*, 2004). Iz tog razloga, ova koncentracija *L. monocytogenes* je legislativom propisana kao kriterijum bezbednosti hrane plasirane na tržište za vreme roka njene upotrebe (Regulation EC 2073/2005; Regulation EC 1441/2007). Pošto je LM ubikvitaran mikroorganizam, glavni faktor rizika za potošaću je kontaminacija hrane tokom prerade i RTE hrane; stoga, monitoring ovog patogena je fokusiran na RTE hranu.

Kada se govori o prisustvu *L. monocytogenes* samo u RTE proizvodima od mesa, u 2009. godini na nivou EU je detektovana u 2.6% RTE proizvoda od svinjskog mesa, 2.2% živinskog i 1% govedeg (EFSA, 2011a). Kada je u pitanju neispunjavanje LM kriterijuma bezbednosti hrane u EU u 2009. godini, najviše slučajeva prekoračenja dozvoljene koncentracije ovih bakterija u hrani u prometu je zabeleženo u RTE proizvoda od ribe (0.5%) i RTE tipova mesa isključujući fermentisane kobasice (0.3%) (EFSA, 2011a).

Listerioza ljudi. Inkubacija ove bolesti je vrlo varijabilna i može od jednog dana pa do više od tri meseca, ali je najčešće 2-3 nedelje (Buncic *et Avery*, 2004; FAO/WHO, 2004b). Simptomi dosta variraju, od blagih sličnih gripu i/ili dijareje do stanja koja se karakterišu septikemijom i meningoencefalitisom i koja ugrožavaju život ili ostavljaju trajne posledice (Nieman *et Lorber*, 1980; Goulet *et Marchetti*, 1996; Buncic *et Avery*, 2004; FAO/WHO, 2004b). U ljudi, ozbiljne forme ove bolesti se uglavnom javljaju kod fetusa, male dece i oslabljenih (starijih i imuno-nekompetentnih) osoba. Kod trudnica, infekcija može da pređe na fetus, pa da dođe ili do pobačaja ili da se dete rodi sa teškim znacima bolesti (Donnelly, 2001). Uglavnom, LM infekcije ljudi su relativno retke; incidencija u EU tokom 2004-2008. perioda je bila na nivou 0.3/100000. Međutim, u 2009. je bila znatno viša - 3.6/100000 (Grafikon 2). U svakom slučaju, ovoj bolesti se pridaje velika važnost zbog visokog mortaliteta koji se kreće od 10%

pa do preko 50% (Farber *et al.*, 1991; Buncic *et al.*, 2004; EFSA, 2011a). Ovaj patogen je među najvažnijim uzročnicima smrti od alimentarnih oboljenja u industrijalizovanim zemljama (Tappero *et al.*, 1995); procenjuje se da je u EU u 2009. godini oko 270 ljudi umrlo od listerioze (EFSA, 2011a). U EU, u periodu od 2004. do 2009. godine, skoro 60% slučajeva ove bolesti je zabeleženo u populaciji ljudi starijih od 65 godina (incidencija oko 1.1/100000) (EFSA, 2006; EFSA, 2007a; EFSA, 2008a; EFSA, 2009; EFSA, 2010a; EFSA, 2011a).

1.4. Bolest izazvana verocitotoksičnom *Escherichia coli*

Verocitotoksična *E. coli* (VTEC) predstavlja grupu *E. coli* koje karakteriše sposobnost da produkuju toksine koji su označeni kao verocitotoksini. VTEC koja je izaziva alimentarno oboljenje u ljudi mora da ima i dodatne faktore virulencije neophodne za razvoj bolesti. Veliki broj serotipova *E. coli* spada u ovu grupu, ali većina VTEC epidemija i sporadičnih infekcija je vezana za mali broj O:H serotipova. Od njih, serotip O157:H7 je najčešće povezan sa bolešću ljudi.

Infekcije ljudi mogu da nastanu konzumiranjem kontaminirane hrane ili vode, ili direktnim kontaktom sa životinjama ili obolelim ljudima. Mnogi od tipova VTEC mogu da se izoluju iz životinja i namirnica, ali njihov individualni značaj za infekcije ljudi, međutim, može da varira i još nije dovoljno jasan.

VTEC u životinja za proizvodnju mesa. Razne vrste životinja mogu biti nosioci i izlučivači VTEC, uključujući serotip O157:H7, ali gastrointestinalni trakt zdravih preživara (pre svega goveda) se smatra najvažnijim rezervoarom (Chapman *et al.*, 1992). Goveda su asimptomatski nosioci i ekskretori *E. coli* O157, a učestalost je povezana sa starošću životinja i godišnjom sezonom (van Donkersgoed *et al.*, 1999; Caprioli *et al.*, 2005). U EU u 2008. godini, uzorci od 6.8% živih testiranih goveda su bili pozitivni na VTEC, a 2.7% na serotip O157 (EFSA, 2011a). Postoje velike varijacije među državama članicama - u nekim i do 50% goveda je bilo pozitivno na VTEC, a preko 20% na O157. To je u generalnoj saglasnosti sa mnogim prethodnim izveštajima (Wray *et al.*, 1993; Bonardi *et al.*, 1999; Pradel *et al.*, 2000; Urdahl *et al.*, 2003; EFSA, 2008a; EFSA, 2009; EFSA, 2010a).

Takođe, ovce su značajni izvor ovog patogena, dok svinje i živina takođe mogu da budu izvor, ali se ne smatraju značajnim (Heuvelink *et al.*, 1999; Johnsen *et al.*, 2001; Bonardi *et al.*, 2003; Rey *et al.*, 2003; EFSA, 2007c, Lenehan *et al.*, 2007; EFSA, 2008a).

VTEC u mesu. Goveđe meso se smatra najvažnijim izvorom alimentarnih infekcija ljudi sa VTEC, ali je značajan izvor i ovčije meso; retko i svinjsko meso može biti izvor infekcije. U 2009. godini, u EU je zabeleženo 2.3% uzoraka goveđeg mesa pozitivnih na ovog patogena, a 0.7% su bili pozitivni na *E. coli* O157, sa znatnim varijacijama među državama članicama (EFSA, 2011a). U Srbiji je na obrađenim trupovima goveda utvrđena prevalencija *E. coli* O157 od 2.8%, a 2.1% u nadevu za kobasice od goveđeg mesa (Nastasijevic *et al.*, 2009).

Bolest ljudi izazvana sa E. coli O157. Inkubacija je najčešće oko 3 dana, a bolest obično traje oko nedelju dana. Glavni simptomi bolesti ljudi variraju od blage do krvave dijareje (hemoragični kolitis), koja je često praćena abdominalnim grčevima i uglavnom prolazi bez visoke temperature (Nataro *et al.*, 1998; Park *et al.*, 1999). U nekim slučajevima, VTEC infekcije mogu da rezultiraju i hemolitičkim uremičnim sindromom (HUS). HUS je praćen akutnom bubrežnom insuficijencijom, anemijom i trombocitopenijom. HUS se razvija kod oko 10% ljudi inficiranih sa VTEC i predstavlja vodeći uzrok akutne bubrežne insuficijencije kod male dece (Park *et al.*, 1999). Kao posledica HUS može da nastane i trombotična trombocitopenijska purpura (Mead *et al.*, 1998). Kod starijih ljudi i sa oslabljenim imunitetom, mortalitet u VTEC infekcija može biti i do 50%. Najviše slučajeva se prijavljuje tokom leta i rane jeseni (EFSA, 2011a).

U 2009. godini u EU je zabeleženo preko 3500 slučajeva ljudi obolelih od VTEC, od toga više od polovine slučajeva je izazvano sa *E. coli* O157 (EFSA, 2011a), a u 242 obolelih se razvio i HUS. Najviša incidencija je u dece starosti do 4 godine (7.2/100000), a zatim u starosnoj grupi 5-14 godina. Najveća epidemija u 2009. godini je zabeležena u Rumuniji sa 72 obolelih ljudi (32 hospitalizovano); crveno meso je bilo identifikovano kao izvor bolesti (EFSA, 2011a). U 2008. godini u EU, sumnja se da je bilo 75 epidemija ove bolesti, ali je u samo pet identifikovana hrana koja je bila izvor; u tri od njih (17 obolelih, pet hospitalizovanih) izvor je bilo goveđe meso (EFSA, 2010a).

1.5. Jerzinioza

Rodu *Yersinia* pripadaju tri vrste bakterija za koje je poznato da izazivaju infekcije ljudi: *Yersinia enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* i *Y. pestis* (izaziva kugu ljudi). Poslednja velika epidemija izazvana sa *Y. pestis* u Evropi bila je 1720. godine i danas se veruje da je iskorenjena u Evropi (EFSA, 2004). *Y. pseudotuberculosis* i pojedini tipovi *Y. enterocolitica* izazivaju enterične infekcije ljudi s tim što je *Y. enterocolitica* danas od glavnog interesa za bezbednost hrane u Evropi (EFSA, 2007d).

Infekcija ljudi sa *Y. enterocolitica* uglavnom nastaje ingestijom kontaminirane hrane, naročito sirovog ili nedovoljno termički tretiranog svinjskog mesa (EFSA, 2007d; Fredriksson-Ahomaa *et al.*, 2006; Bucher *et al.*, 2008). Sposobnost ovog mikroorganizma da se razmnožava pri temperaturama hlađenja hrane (npr 4°C) povećava rizik da hrana koja se relativno dugo drži u frižideru postane izvor infekcije (Mills, 2004). Konzumacija kontaminiranog nepasterizovanog mleka ili vode koja nije adekvatno tretirana, takođe može da izazove infekciju. Retko, infekcija može da se javi i direktnim kontaktom ljudi sa svinjama (Minnich *et al.*, 2001).

Jerzinioza izazvana sa *Y. pseudotuberculosis* ima mnogo sličnosti sa bolešću izazvanom sa *Y. enterocolitica* (EFSA, 2011a). Glavni rezervoar *Y. pseudotuberculosis* su divlje životinje, pre svega glodari i divlje ptice (Wuthe *et al.*, 1995; EFSA, 2007d). Infekcije češće nastaju ingestijom bakterija iz sirovog povrća, voća, ali i drugih namirnica uključujući meso. Takođe, zabeleženi su i slučajevi infekcije putem vode ili direktnim kontaktom sa inficiranim životinjama (EFSA, 2011a).

Većina izolata *Y. enterocolitica* iz hrane i životne sredine su nepatogeni tipovi. Zato je važno da se biotipiziranjem izolata odredi da li su sojevi patogeni za ljude. U Evropi, većina *Y. enterocolitica* koje su patogene za ljude pripada biotipu 4 (serotip O:3) ili nešto ređem biotipu 2 (serotip O:9) (EFSA, 2011a).

Yersinia enterocolitica u životinja za proizvodnju mesa. Glavni rezervoar *Y. enterocolitica* sojeva patogenih za ljude su svinje koje su najčešće asimptomatski nosioci ovog patogena u usnoj duplji, tonzilama i fecesu (Minnich *et al.*, 2001; Nesbakken *et al.*, 2003). Rezervoar, iako manje značajan, mogu biti i goveda, kao i mali preživari.

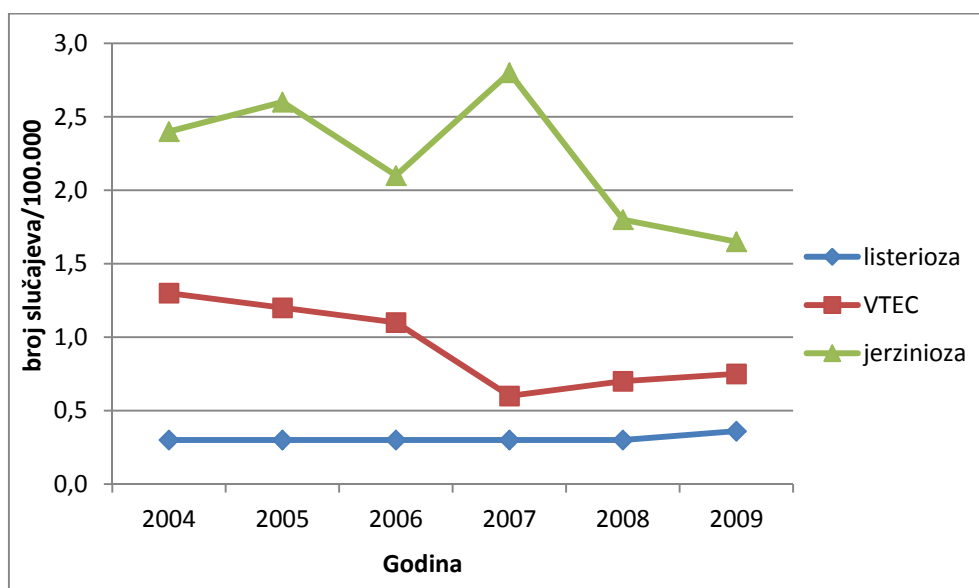
U EU u 2008. godini, 1.8% testiranih svinja je bilo pozitivno na *Y. enterocolitica* (EFSA, 2010a), dok je u 2009. u Španiji i Portugalu izvešteno o prevalenciji u svinja većoj od

40% (EFSA, 2011a). Takođe, i druge studije ukazuju na visoku prevalenciju ovog patogena u fecesu, usnoj duplji i tonzilama svinja (Van Damme *et al.*, 2010; Ortiz Martinez *et al.*, 2010).

Yersinia enterocolitica u mesu. U 2009. godini u EU, 4.9% testiranih uzoraka svinjskog mesa i proizvoda od njega bilo je pozitivno na *Yersinia* spp., a na *Y. enterocolitica* 4.8% uzoraka svinjskog mesa uzetih iz klanica i prometa (EFSA, 2011a). Prema starijim publikacijama, čak i do 30% mlevenog svinjskog mesa sadrži patogene sojeve *Y. enterocolitica* (Andersen *et al.*, 1991). Takođe, poznato je da je i goveđe i živinsko meso bilo pozitivno, ali vrlo retko (EFSA, 2006; EFSA 2008).

Jerzinoza ljudi. Jerzinoza izazvana sa *Y. enterocolitica* najčešće se manifestuje dijarejom, ponekad krvavom, i to najčešće kod male dece (Bucher *et al.*, 2008). Simptomi se uglavnom razvijaju 4-7 dana nakon izlaganja ovom agensu i mogu da traju 1-3 nedelje, ali i duže. Kod starije dece i odraslih, bol u desnoj strani abdomena i febra, mogu da budu predominantni simptomi i zato ova bolest može često da se zameni sa zapaljenjem slepog creva. Mogu da se jave komplikacije poput osipa na koži, bolova u zglobovima i bakterijemije, ali i reaktivni artritis sa trajnim posledicama (Bottone, 1999).

Ova bolest je treća po broju slučajeva alimentarnih oboljevanja ljudi u EU u periodu 2004-2009. godine, posle kampilobakterioze i salmoneloze; međutim, uočava se i opadajući trend broja slučajeva ove bolesti (Grafikonu 2). U 2008. godini, u EU su zabeležene 22 epidemije jerzinoze, skoro polovina tog broja u Nemačkoj (EFSA, 2010a).



Grafikon 2 - Incidencija listerioze, bolesti izazvane sa VTEC i jerzinoze u EU u periodu 2004-2009. godine

1.6. Trihineloza

Trihineloza je zoonotska bolest izazvana parazitskim nematodama iz roda *Trichinella*. Ovi paraziti imaju mnogo vrsta domaćina, uglavnom sisara. *Trichinella* prolazi kroz sve stadijume životnog ciklusa - od larve do odraslog parazita - u jednom domaćinu. Širom sveta, do danas je opisano osam vrsta ovog parazita (Alban *et al.*, 2011; EFSA, 2011a): *T. spiralis*, *T. nativa*, *T. britovi*, *T. murelli*, *T. nelsoni*, *T. pseudospiralis*, *T. papuae* i *T. zimbabwensis*. Većina infekcija ljudi u Evropi je izazvana sa *T. spiralis*, *T. nativa* i *T. britovi* (Buncic *et Mirilovic*, 2010).

Ljudi se uglavnom zaraze konzumiranjem sirovog ili nedovoljno termički tretiranog mesa koje je invadirano infektivnim larvama. Najčešći izvor infekcije ljudi je svinjsko meso uključujući i meso divlje svinje (EFSA, 2011a). Meso konja je identifikovano kao izvor infekcije u brojnim epidemijama zabeleženim u EU od sredine 70-ih do kasnih 90-ih godina prošlog veka (Pozio *et al.*, 1988). Takođe, i druge vrste životinja čije se meso koristi u ishrani ljudi, uglavnom divlje (na primer, medved), mogu da budu izvor infekcije.

Trichinella u životinja za proizvodnju mesa. Prisustvo *Trichinella* je obavezno da se ispituje u zaklanih domaćih i divljih svinja, kopitara i svih vrsta divljači koja je osetljiva na trihinelozu i čije meso je namenjeno ishrani ljudi (Regulation EC 854/2004; Regulation EC 2075/2005). U EU u periodu 2007-2009. godine je prevalencija u zaklanih svinja bila vrlo niska, 0.0004%. U EU u 2008. godini, među preko 160 miliona pregledanih zaklanih svinja, trihineloza je detektovana u malo više od hiljadu, od čega je oko 80% slučajeva otkriveno u Rumuniji (EFSA, 2010a; EFSA, 2011a). Takođe, u 2008. godini je prvi put je posle nekoliko godina detektovan jedan slučaj invazije u konja u EU, među oko pola miliona testiranih konja (EFSA, 2010a). Prevalencija u EU u 2007. godini u pregledanih divljih svinja je bila 0.4%, znatno viša nego u domaćih (EFSA, 2009). U Srbiji je u poslednjoj deceniji XX i prvoj deceniji XXI veka otkrivano od oko 150 do 1700 slučajeva zaraženih zaklanih domaćih svinja godišnje (Buncic *et Mirilovic*, 2010).

Trihineloza ljudi. Klinički znaci akutne trihineloze ljudi uglavnom nastaju 8-15 dana nakon konzumiranja invadiranog mesa. Bolest karakterišu dve faze, vezane za crevnu i mišićnu fazu u razvoju ovog parazita. Prva faza simptoma može da uključuje mučninu, dijareju,

povraćanje, zamor, febru i osećaj nelagodnosti u stomaku. Posle toga, druga faza simptoma uključuje bolove u mišićima, glavobolje, febre, bolove u zglobovima, drhtavicu, kašalj, svrab na koži, a to može da prati dijareja ili konstipacija (PAHO, 2003). U ozbiljnijim slučajevima, problemi sa koordinacijom pokreta, kao i problemi sa srcem i disanjem mogu da se jave. Mali procenat slučajeva obolelih od trihineloze završava letalno.

U 2009. godini, u EU je zabeleženo preko hiljadu slučajeva ove bolesti, od kojih je oko 750 potvrđeno; 90% svih slučajeva je zabeleženo u Rumuniji i Bugarskoj. U preko 90% slučajeva, meso domaće svinje je bilo izvor infekcije (EFSA, 2011a).

U 2008. godini, Rumunija je izvestila o oboljevanju 108 ljudi od trihineloze - svi su bili smešteni u bolnicu. Uzrok bolesti je bilo nedovoljno termički obrađeno svinjsko meso, koje nije pregledano na *Trichinella*, a služeno je u jednoj kantini (EFSA, 2010a).

1.7. Toksoplazmoza

Toksoplazmoza je izazvana obligatnom intracelularnom protozom *Toxoplasma gondii*. Konačni domaćin ovog parazita su felide, a toplokrvne životinje i čovek su prelazni domaćini. Čovek se inficira ingestijom jajašaca ovog parazita (oociste) koje se nalaze u zaraženih felida (hrana ili voda kontaminirani fecesom felida) ili cista (bradizoiti) u mišićima drugih prelaznih domaćina, konzumiranjem nedovoljno kuvanog kontaminiranog mesa zaraženih životinja (Cook *et al.*, 2000; EFSA, 2007b; EFSA, 2011a).

Toxoplasma u životinja za dobijanje mesa/mesu. Kod domaćih životinja, ova bolest je važna jer izaziva velike ekonomske gubitke; pre svega u ovaca jer dolazi do čestih pobačaja i pojave mrtvorodne jagnjadi (Buxton, 1990). Klinički znaci i postmortalni nalazi su uglavnom nespecifični (FAO, 1994), što onemogućava makroskopsku identifikaciju životinja koje predstavljaju rizik za ljude u pogledu ovog hazarda (Dubey *et al.*, 2002). U 2009. godini u EU, 24.4% testiranih ovaca i koza, a 5.3% goveda i 0.4% svinja je bilo serološki pozitivno na ovu protozou (EFSA, 2011a).

Meso ovaca i svinja ima mnogo veći značaj po pitanju izvora ovog parazita za infekciju ljudi, nego goveđe meso (EFSA, 2007b) jer, iako relativno veliki broj goveda sadrži specifična antitela, vijabilne ciste se vrlo retko nalaze u skeletnoj miskulaturi goveda (Tenter *et al.*, 2000).

Toksoplazmoza ljudi. Smatra se da je više od jedne desetine populacije ljudi na planeti inficirano ili bilo inficirano sa *T. gondii* (Dubey *et Beattie*, 1988), a neke procene su da je inficirano čak 50-80% stanovništva u Evropi (EFSA, 2011a). Uobičajeno, infekcija ljudi je hronična i uglavnom asimptomatska; međutim, u oko 15% inficiranih se razviju znaci bolesti: febra i limfadenopatija (Mead *et al.*, 1999). Rizična grupa su inficirane trudnice, jer može da dođe do pojave slepila i mentalne zaostalosti novorođenčadi, kao i uginjavanja fetusa (Frenkel, 1988). Takođe, ova infekcija je često fatalna za imuno-nekompromitovane ljude, uključujući zaražene HIV-om i one koji primaju hemoterapiju zbog neoplastičnih bolesti i nakon transplantacije organa (PAHO, 2003).

U 2009. godini u EU je potvrđeno 1259 slučajeva ove bolesti (incidencija 0.65/100000 stanovnika), a najviše otkrivenih slučajeva je bilo među ženama starosti 24-44 godine, kao rezultat skrining testa trudnica (EFSA, 2011a). U 2009. godini u EU, zabeleženo je 23 slučaja obolele dece mlađe od godinu dana.

1.8. Tuberkuloza izazvana sa *Mycobacterium bovis*

Tuberkuloza je ozbiljna bolest ljudi i životinja izazvana nekim bakterijama iz familije *Mycobacteriaceae*. U ovu grupu spada *Mycobacterium bovis* koja uglavnom izaziva tuberkulozu goveda, ali koja može da inficira i mnoge druge toplokrvne životinje, kao i čoveka. Takođe, u ovu grupu spada i *Mycobacterium avium*; međutim, ovaj mikroorganizam se ne smatra relevantnim u kontekstu transmisije putem mesa na ljude. Kod ljudi, infekcija sa *M. bovis* izaziva bolest vrlo sličnu infekciji sa *M. tuberculosis*, koja je primarni uzročnik tuberkuloze ljudi (EFSA, 2011a).

Glavni načini zoonotske transmisije *M. bovis* na ljude su putem kontaminirane hrane (naročito putem sirovog mleka i proizvoda od njega) ili direktnim kontaktom sa životinjama. Brojne divlje životinje, poput jelena, divljih veprova, jazavaca i evropskog bizona, mogu da doprinesu širenju i/ili održavanju *M. bovis* infekcije u populaciji goveda.

M. bovis u životinja za proizvodnju mesa. U goveda je ova bolest uglavnom hronična, a karakteristična i po karakterističnim lezijama (kazeozna nekroza) zbog čega može da se otkrije prilikom postmortalne inspekcije mesa (Wilson, 1998). Takođe, kontrola ove bolesti u

goveda se zasniva na tuberkulinskom testiranju na farmi (De la Rúa-Domenech *et al.*, 2006) i klanju pozitivnih reaktora. Bolest je iskorenjena u nekim od zemalja EU, međutim u drugim još uvek predstavlja veliki problem u zdravstvenoj zaštiti životinja.

Neke članice EU su zvanično slobodne od bovine tuberkuloze, mada i među njima neke povremeno prijavljuju pozitivna stada goveda. Ostale zemlje članice, koje nisu zvanično slobodne od tuberkuloze, primenjuju programe za eradikaciju bovine TBC i u njima je nešto preko 0.5% stada bilo pozitivno u periodu 2005-2009. godine, dok je na nivou cele EU, oko 0.4% stada bilo pozitivno (EFSA, 2007a; EFSA, 2008a; EFSA, 2009; EFSA, 2010a; EFSA, 2011a). Nekoliko EU članica je u periodu 2004-2009. godine prijavilo tuberkulozu izazvanu sa *M. bovis* kod ovaca, koza i svinja, otkrivenih postmortalnom inspekcijom pa potvrđenih laboratorijski. Što se tiče divljih životinja, nekoliko članica je prijavilo *M. bovis* infekcije u jelena, lisica i divljih svinja (EFSA, 2011a).

M. bovis u mesu. Tuberkulozne lezije u skeletnim mišićima su retke i uočavane su samo u životinja sa generalizovanom tuberkulozom (De la Rúa-Domenech, 2006). Dostupni podaci ukazuju da je prisustvo vijabilnih *M. bovis* u skeletnim mišićima inficiranih goveda vrlo retko, a i ako su prisutne, prisutne su u malom broju; takva je situacija bila čak i pre uvođenja kontrolnih mera za tuberkulozu (EFSA, 2003).

Tuberkuloza ljudi izazvana sa M. bovis. Činjenica je da ne postoje dokazi o nastanku infekcije ljudi putem konzumiranja mesa, još od sredine XX veka (EFSA, 2003). Teoretski, ovakav put infekcije je moguć, ali se taj rizik smatra vrlo niskim (Francis, 1973; Kleeberg, 1984). U EU je u periodu 2004-2008. godina prijavljeno oko 100-120 slučajeva ove bolesti ljudi godišnje (EFSA, 2007a; EFSA, 2008a; EFSA, 2009; EFSA, 2010a; EFSA, 2011a), najviše u populaciji starijoj od 65 godina.

II - 2. ISTORIJAT SISTEMA BEZBEDNOSTI MESA

Veza između bolesti životinja i bolesti ljudi je verovatno prepoznata u ranoj istoriji čovečanstva, ali prvi pisani dokazi o ovoj vezi potiču iz Stare Grčke. Kasnije, napredak u medicini i bolje razumevanje značaja bezbednosti hrane je doveo do začetaka inspekcije mesa u Evropi: u Francuskoj sredinom XII veka, u Engleskoj početkom XIV veka i u Nemačkoj krajem XIV veka (Buncic, 2006; Dwinger *et al.*, 2009).

Od početka XIX veka pa do danas dešavala se postepena transformacija tradicionalnog ruralnog društva u moderno. Ovaj proces modernizacije bio je praćen karakterističnim promenama poput rasta populacije, urbanizacije, ekonomskog napretka, industrijalizacije i posledično poboljšanja životnog standarda. Ove promene su izazvale i neke promene navika u ishrani, između ostalih i povećanu konzumaciju mesa (Koolmees, 1999). To je iziskivalo i potrebu za sve većim brojem klanica i uvođenje prakse pregleda životinja koje se kolju, jer je prepoznato da putem namirnica od bolesnih životinja i čovek može da se zarazi. Tako je sredinom XIX veka u Nemačkoj razvijena i uvedena inspekcija mesa koju danas nazivamo tradicionalnom i koja je usvojena i uvedena prvo širom Evrope, a zatim i šire. Ovaj sistem inspekcije je tada imao za cilj da detektuje glavne zoonotske bolesti poput trihineloze, tuberkuloze i tenijaze koje su u to vreme bile endemične u Evropi (Blackmore, 1986; Edwards *et al.*, 1997). To je bilo značajno, jer je Robert von Ostertag (Ostertag, 1899) u to vreme prvi uvideo značajnost zoonoza za zdravlje čoveka. On je ukazao da čovek može da dobije tuberkulozu jedući zaraženo meso i brucelozu od zaraženog mleka. Očigledne tuberkulozne promene kod obolelih životinja „inspektor za meso“ je mogao da detektuje upotrebom „oka i noža“ (M'Fadyean, 1895; Ostertag, 1899). Tokom XIX i XX veka, veterinarski pregled mesa je dao ogromne rezultate u sprečavanju širenja bolesti i zaštiti zdravlja ljudi kroz obezbeđivanje zdravstveno ispravnog mesa u pogledu zoonoza zbog kojih su te procedure i razvijene.

U razvijenim zemljama, klasične zoonotske bolesti poput tuberkuloze su uglavnom iskorenjene u zapadnoj Evropi do kraja 1960-ih godina, što je rezultiralo velikim poboljšanjem zdravlja životinja, velikim smanjenjem broja nađenih lezija prilikom inspekcije mesa koje su vezane za klasične zoonoze, kao i smanjenja tih bolesti u ljudi (Blackmore, 1986; Grossklaus, 1987; Berends *et al.*, 1993; Edwards *et al.*, 1997). Današnja stočarska proizvodnja je daleko intenzivnija, a period odgoja životinja - samim tim i vreme u kojem te životinje mogu da budu izložene bakterijskim i parazitskim agensima - je znatno kraći. U

intenzivnim sistemima proizvodnje je smanjena i mogućnost izloženosti hazardima iz štetočina (njihovom kontrolom) i divljih životinja (onemogućavanjem kontakta sa njima) (Edwards *et al.*, 1997). Međutim, moderno stočarstvo je doprinelo i većem prisustvu drugih zoonotskih patogena u životinja za klanje - na primer *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, VTEC (Hathaway *et Richards* 1993; Mousing *et al.*, 1997; Nielsen *et Wegener*, 1997). Ovi organizmi se danas smatraju najvažnijim alimentarnim patogenima (opisani u prethodnom poglavlju), ali tradicionalna inspekcija mesa njih ne može da otkrije jer su životinje uglavnom asimptomatski nosioci; čak i ako izazivaju lezije u životinja za klanje, te lezije su nevidljive makroskopskim pregledom.

Pošto su najvažniji alimentarni patogeni prisutni najčešće na koži i u digestivnom traktu životinja, dolazi do unakrsne kontaminacije mesa trupova tokom procesa klanja i obrade zaklanih životinja. Rizik od te kontaminacije je moguće smanjiti optimizacijom procesne higijene, kroz sistem baziran na dobroj higijenskoj praksi (GHP) i sistemu HACCP. Sistem HACCP je razvijen 1960-tih godina u USA, na inicijativu NASA i u cilju proizvodnje bezbedne hrane za astronaute, da bi se izbegle alimentarne bolesti tokom svemirskih letova (Brown, 2000; Delazari *et al.*, 2006). Nakon toga je ovaj sistem postepeno razvijan tokom 1970-ih godina uz podršku američke Agencije za hranu i lekove (Kauffman, 1974), a zatim postepeno uveden u lanac hrane u USA do 1990-tih godina. Početkom 1980-tih godina ovaj sistem je počeo da se primenjuje i u drugim razvijenijim zemljama širom sveta, a 1990-tih godina i u zapadnoj Evropi (Jouve, 1994). U EU je ovaj sistem od početka 2006. godine zakonski obavezan u klanicama i drugim objektima gde se rukuje mesom. Smatra se glavnim, internacionalno priznatim sistemom upravljanja bezbednošću hranom (Schlundt, 1999; Ropkins *et Beck*, 2000; Wilhelm *et al.*, 2011).

U novije vreme, sve je jača težnja da se bezbednost hrane kontroliše sveobuhvatnijim konceptom koji se fokusira na razmatranje svakog hazarda u celom lancu hrane/mesa (od farme do trpeze) i posledica do kojih on može da dovede u ljudi koji hranu konzumiraju. U tom konceptu, glavni alat predstavlja analiza rizika; koristi se da se prvo kvalitativno ili kvantitativno ocene rizici koji ugrožavaju bezbednost hrane/mesa, a da se potom primene adekvatne kontrolne mere kako bi se neprihvatljivo visoki rizici redukovali na nivo koji se smatra prihvatljivim (Forsythe, 2002).

II - 3. “FOOD CHAIN“ – “LONGITUDINAL INTEGRATED SAFETY ASSURANCE” KONCEPT U KONTEKSTU BEZBEDNOSTI MESA

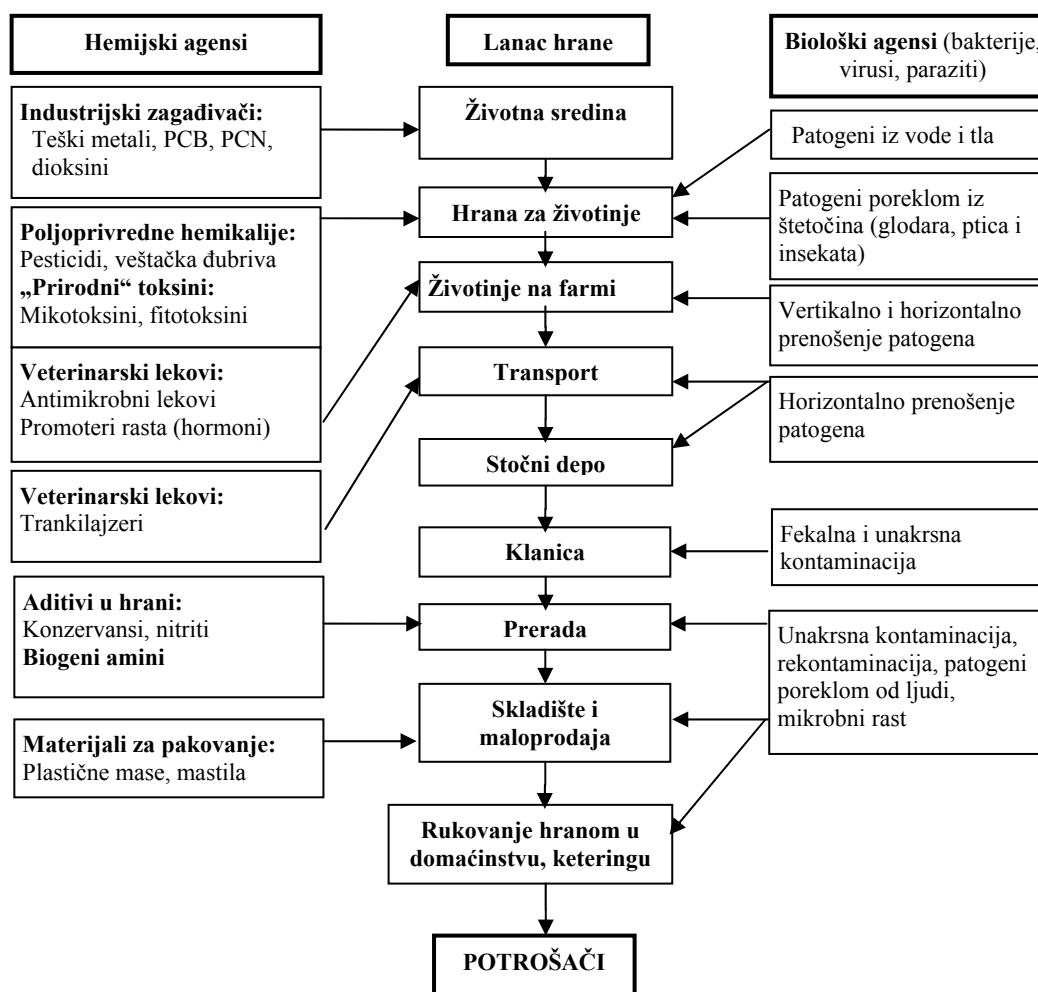
Istorijski gledano, glavni pristupi osiguranju bezbednosti hrane su uključivali: (a) inspekciju hrane; i/ili (b) laboratorijsko testiranje finalnog proizvoda. Veterinarska inspekcija mesa je veoma značajno doprinela poboljšanju zdravlja ljudi u proteklih 150 godina organoleptičkim otkrivanjem klasičnih zoonotskih bolesti u zaklanih životinja i njihovim eliminisanjem iz lanca hrane. Međutim, kao što je ranije navedeno, patogene koji danas izazivaju većinu alimentarnih bolesti (na primer, *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* O157) nije moguće detektovati makroskopski, već jedino laboratorijskim testiranjem proizvoda. Stoga, testiranje alimentarnih patogena u finalnom proizvodu je bilo osnova alternativnog pristupa osiguranju bezbednosti mesa. Međutim, i ovaj drugi pristup se ne smatra pouzdanim i/ili praktičnim, iz više razloga: ne može se svaka jedinica hrane testirati na svaki patogen; dostupni metodi testiranja nisu dovoljno osetljivi; rezultati ispitivanja se suviše kasno dobijaju da bi bili upotrebljivi; takva ispitivanja ne ukazuju na izvor problema. U svakom slučaju, ova dva tradicionalna pristupa u bezbednosti hrane su reaktivne prirode, tj. bave se problemima tek nakon što se pojave (Buncic, 2006).

Osnovu modernog sistema osiguranja bezbednosti hrane predstavlja pristup da se mogući problemi predvide pre nego što se stvarno pojave (proaktivni pristup), a zatim da se razviju kontrolne, preventivne mere na specifičnim tačkama u lancu hrane gde se očekuju. Hazardi za zdravlje ljudi često ulaze u lanac hrane na različitim tačkama; stoga, oni treba da se kontrolišu na svakoj od tih tačaka (Grafikon 3). Takođe, hazardi koji su jednom ušli u lanac hrane, mogu na nekoj tački da nestanu, a zatim da se ponovo uključe u lanac na drugoj tački. Priroda problema se razlikuje na pojedinim tačkama lanca i porast ili smanjenje rizika od takvih zdravstvenih hazarda na bilo kojoj tački lanca neizbežno utiče na nivo rizika na susednim (ili udaljenim) tačkama lanca (longitudinalni efekat). Stoga, ako se kontrolne aktivnosti primenjuju samo na jednoj tački - nisu dovoljno efikasne. Umesto toga, sve tačke moraju da se razmatraju na simultani, koordinisan i multidisciplinarni način (integrisani efekat) (Buncic, 2006). Tamo gde rizici za javno zdravlje ne mogu da se eliminišu u potpunosti, mogu da se redukuju i moguće je postići zbirni efekat redukcija rizika u takvom longitudinalnom i integrisanom sistemu koji na kraju rezultira konačnom redukcijom rizika (u momentu konzumiranja hrane) koja se ne može postići ni jednim metodom redukcije pojedinačno. Razumljivo, pošto u lancu hrane postoje brojne tačke, učesnici i aktivnosti,

razvoj i primena sistema „od farme do trpeze” moraju biti multidisciplinarni i naučno zasnovani.

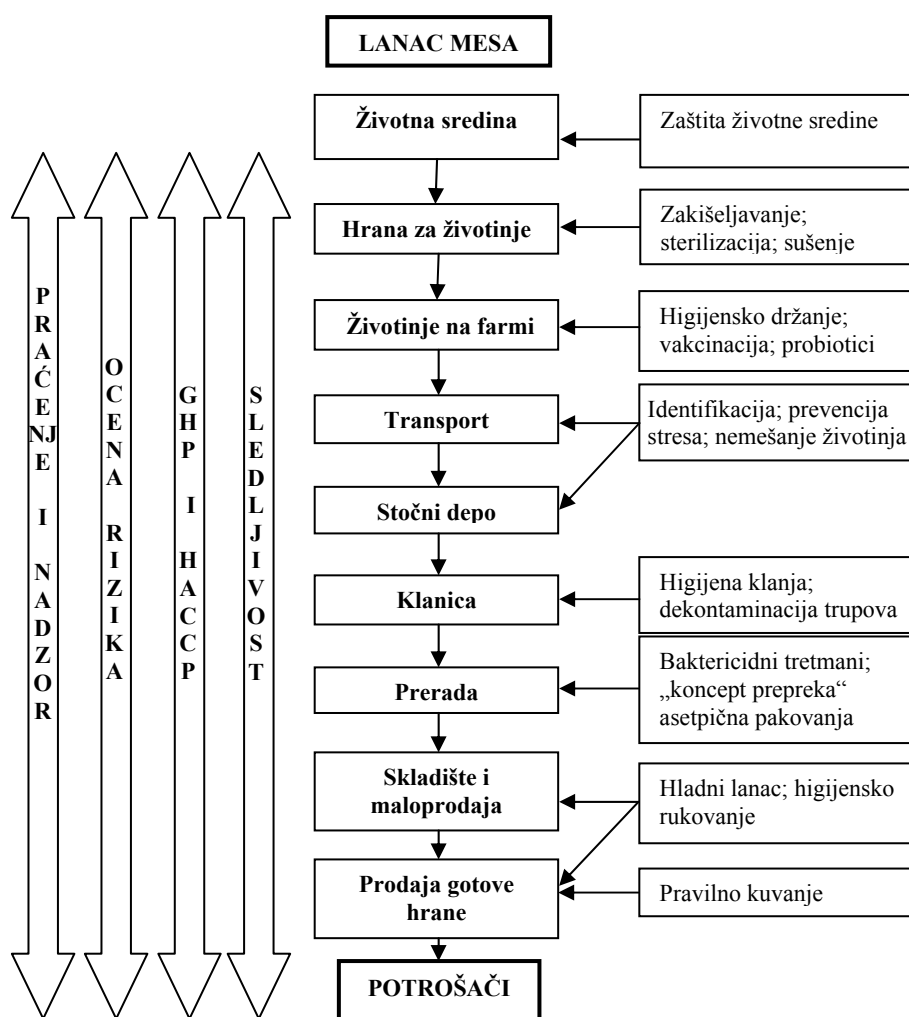
Komercijalni okvir longitudinalnog i integrisanog osiguranja bezbednosti (Longitudinal Integrated Safety Assurance, LISA) koncepta se bazira na činjenici da je krajnji proizvod svakog učesnika u lancu hrane (u proizvodnji hrane za životinje, na farmi, u klanici, u preradi, u prodaji) isti, tj. hrana koju čovek konzumira. Ako ta hrana nije bezbedna, to će se ekonomski negativno odraziti na svakog učesnika u lancu hrane. Primer za ovaj komercijalni okvir su veliki lanci supermarketa koji diktiraju detaljne uslove proizvodnje i kontrole svima uključenim (na bilo koji način, na bilo kojoj tački lanca) u dobijanje finalnih proizvoda koji su stavljeni u promet u njihovim samouslugama.

Glavni operativni aspekt i alati za primenu LISA koncepta su prikazani u Grafikonu 4. Da bi moglo da se počne sa bavljenjem hazardima za javno zdravlje, prvo je neophodno znati da li postoje i gde postoje u lancu hrane. Uobičajeno je da se ova informacija dobije iz programa monitoringa i nadzora određenih hazarda. Dalje, korišćenjem metodologije ocene rizika, hazardi za javno zdravlje treba da se kvantitativno ocene, što omogućava njihovo rangiranje. Potom, najveći deo dostupnih naučnih i finansijskih resursa treba racionalno usmeriti ka razvoju i primeni kontrolnih sistema za hazarde koji predstavljaju najviši rizik. Trenutno, najbolji kontrolni sistemi su bazirani na dobroj higijenskoj praksi (GHP) i HACCP principima. Ovi principi mogu da se koriste globalno, tj. uzimajući u obzir ceo lanac hrane, sa identifikacijom globalnih kontrolnih mera koje su dostupne (Grafikon 4). Dalje, specifične kontrole koje se primenjuju na pojedinim tačkama su zasnovane na razvoju i impementaciji GHP i HACCP programa, specifično razvijenih za svakog proizvođača. Menadžment bezbednosti hrane je, zajedno sa menadžmentom kvaliteta hrane, deo sistema totalnog menadžmenta kvalitetom (Total Quality Management, TQM) (Grafikon 5). Nakon implementacije, neophodno je kontinuirano vršiti evaluaciju efektivnosti sistema bezbednosti hrane i na nivou celog lanca hrane i na nivou pojedinih tačaka u lancu.

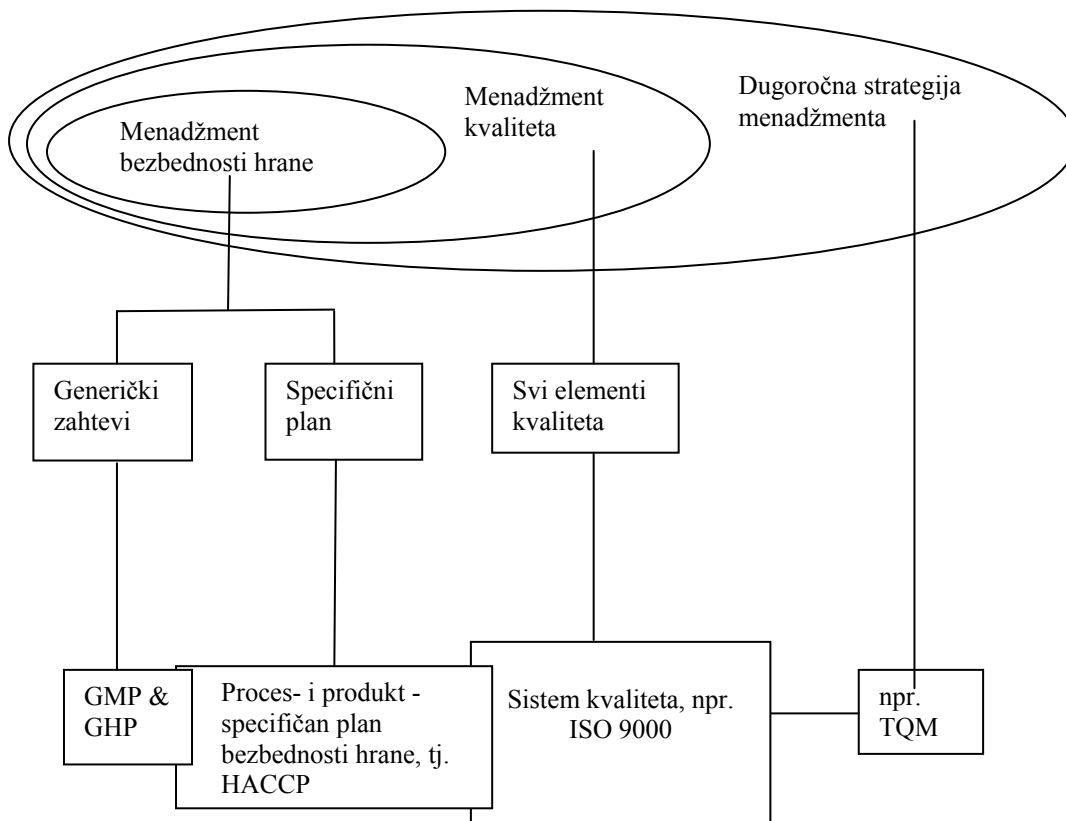


Grafikon 3 - Hazardi u lancu ishrane (Buncic, 2006)

Na svakoj tački lanca hrane, informacija o predistoriji proizvoda (ili njegove komponente) koji ulazi u lanac hrane na toj tački (Food Chain Information, FCI) mora biti dostupna, tako da proizvođači mogu da se grupišu prema nivou rizika koji predstavljaju vezano za određeni hazard i da se u skladu sa nivoom rizika postupa sa proizvodom. Da bi sistemi bezbednosti hrane bili efektivni, i na globalnom (ceo lanac hrane) i individualnom nivou (određena tačka u lancu hrane), sledljivost je neophodan preduslov. Za efektivnu sledljivost, neophodan je sistem identifikacije proizvoda koji omogućava korelaciju svih komponenti proizvoda koje ulaze u lanac hrane ili ga napuštaju na bilo kojoj tački. Jedan od ključnih elemenata LISA koncepta je pravovremeni i dvosmerni (napred i povratni) tok svih relevantnih informacija o proizvodu koji će na kraju biti konzumiran, i među svim učesnicima u lancu hrane (Buncic, 2006).



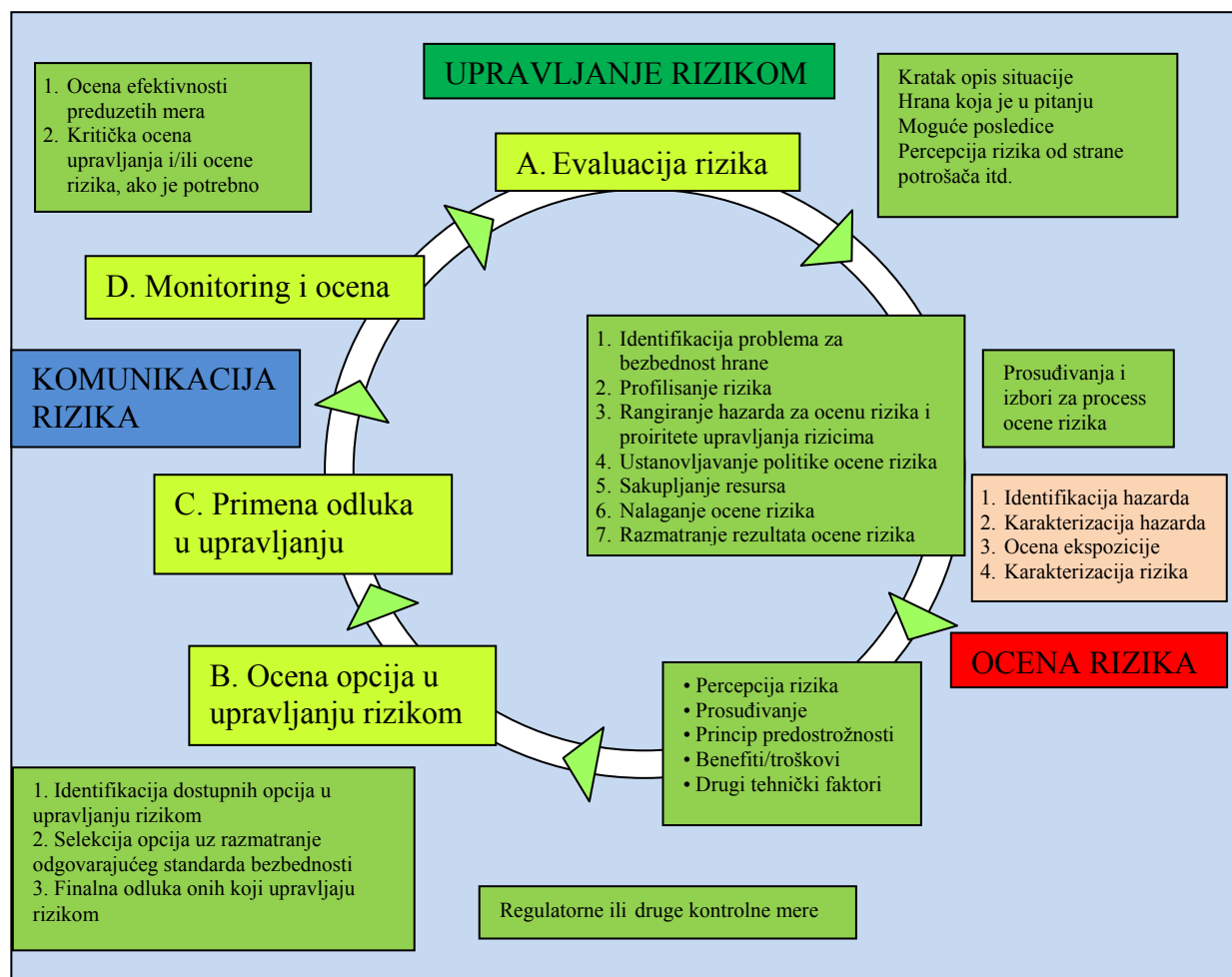
Grafikon 4 - Operativni aspekti LISA koncepta: primer lanac mesa (Buncic, 2006)



Grafikon 5 - Odnos sistema menadžmenta bezbednosti hrane i menadžmenta kvaliteta hrane (Buncic, 2006)

II - 4. ANALIZA RIZIKA

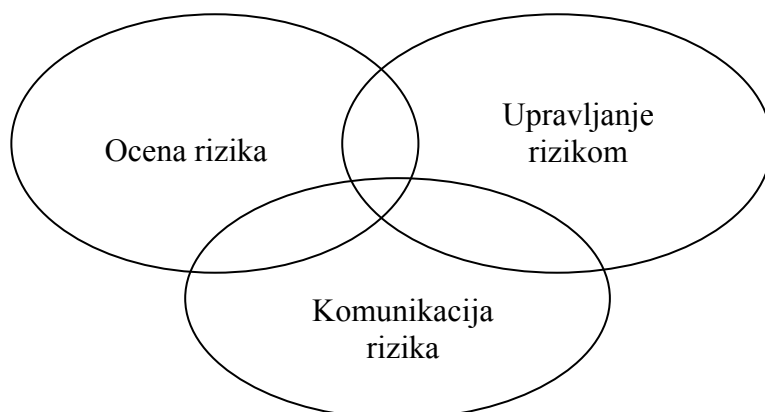
Rizik (u kontekstu bezbednosti hrane) predstavlja funkciju verovatnoće da se javi štetan efekat i težine posledica tog efekta na zdravlje ljudi, vezano za prisustvo određenog hazarda u hrani (CAC, 1999). Analiza rizika je proces pomoću kojeg odgovarajući nadležni organ (često vlada, ili organ koji je imenovala vlada) može da se „bavi“ stvarima koje predstavljaju potencijalnu opasnost (Grafikon 6).



Grafikon 6 - Proces analize rizika (EC, 2003)

Analiza rizika se koristi decenijama kao podrška u donošenju odluka u oblastima gde znanja nisu potpuna, odnosno postoje velike nesigurnosti, kao što su inženjering (npr. nuklearne elektrane, hemijska industrija, farmaceutska industrija i građevinarstvo), menadžment i finansija (npr. upravljanje projektima, odobravanje bankarskih kredita, razni vidovi osiguranja). U skorije vreme, primena analize rizika na polju bezbednosti hrane ima sve značajniju ulogu. Analiza rizika je široko priznata kao osnovna metodologija koja treba da

podrži razvoj standarda bezbednosti hrane (FAO, 1998). To je strukturiran, sistematski proces koji ispituje potencijalne negativne uticaje na zdravlje vezane za određen hazard i razvija opcije za smanjenje rizika od datog hazarda uz interaktivnu komunikaciju između svih zainteresovanih strana uključenih u ovaj proces. Analiza rizika se sastoji od ocene rizika, upravljanja (menadžmenta) rizikom i komunikacije rizika (Grafikon 7). Ovaj okvir je prvobitno definisan od strane FAO, WHO i Komisije *Codex Alimentarius*-a (1995).



Grafikon 7 - Komponente analize rizika (FAO/WHO, 1995)

4.1. Ocena rizika

Ocena rizika predstavlja tehnički i naučno zasnovan proces koji se sastoji od: 1) identifikacije hazarda, 2) karakterizacije hazarda, 3) ocene izloženosti, i 4) karakterizacije rizika (CAC, 1999). Kada je reč samo o mikrobiološkoj analizi rizika, mikrobiološka ocena rizika (MRA) je njen prvi deo. Pre nego se otpočne sa ovim procesom, neophodno je jasno ustanoviti njegovu svrhu, a po završetku procesa potrebno je sastaviti formalni uzveštaj ocene rizika. Ocena rizika ima dva osnovna cilja (Forsythe, 2002):

1. Kvantifikovati (u idealnom slučaju) rizik u definisanoj populaciji vezan za konzumaciju određenog proizvoda. Ako postoji dovoljno podataka, treba odrediti rizik na osnovu frekvencije i nivoa kontaminacije hrane, količine konzumirane hrane (veličina porcije i frekvencija konzumiranja) i primenom odgovarajućeg odnosa doza-odgovor, kako bi se dobio konačan rezultat nivoa rizika za javno zdravlje (npr. broj obolelih u određenoj populaciji u određenom vremenskom periodu);
2. Identifikovati strategije i mere koje mogu da se primene kako bi se smanjio rizik za zdravlje. Ovo uglavnom zahteva modeliranje procesa proizvodnje, prerade i rukovanja

hranom i potencijalnih promena u lancu hrane. Ovako mogu da se identifikuju tačke u tim procesima koje su kritične za njenu bezbednost, a na kojima kontrole ili intervencije postižu najveću redukciju rizika od alimentarnih bolesti.

Ocenu rizika je moguće sprovesti kvalitativno ili kvantitativno (Lammerding *et* Fazil, 2000). Kvalitativna odnosno deskriptivna ocena rizika je uglavnom zasnovana na pregledu naučne literature i podataka i ostaje kao jedina opcija u slučajevima kada su podaci, vreme ili drugi resursi ograničeni. Međutim, kvalitativna ocena rizika, odnosno njeni rezultati su često nedovoljno jasni i nedovoljno upotrebljivi u praksi (Cox *et al.*, 2005; FAO/WHO, 2009a). Alternativno, kvalitativna ocena može da se preduzme kao preliminarna procena nekog problema u bezbednosti hrane („rizični profil“), sa ciljem da se odredi da li je sofisticiraniji, kvantitativni pristup neophodan.

Kvantitativna mikrobiološka ocena rizika (QMRA) predstavlja matematičke analize numeričkih podataka, zasnovane na matematičkim (i probablističkim) modelima. Kvantitativni pristup MRA se preferira jer se dobija jasniji uvid u rizik, bolje se porede rizici od različitih hazarda i kontrolne opcije, ali i zbog pretpostavke da se ovim pristupom pojačava transparentnost. Razvijeni kvantitativni modeli predstavljaju važan alat u nauci: obezbeđuju strukturiran okvir za analizu dostupnih informacija, pomažu u identifikovanju nepostojećih a potrebnih podataka i u optimizovanju njihovog sakupljanja, pomažu u razumevanju nekih bioloških procesa i u fokusiranju na najvažnije probleme (Jouve, 2002; Havelaar *et al.*, 2008). Međutim, ni očekivanja od kvantitativne ocene ne treba da budu preterana. Rezultati treba da budu pažljivo interpretirani i treba razumeti da su validni onoliko koliko su i sve korišćene pretpostavke u modeliranju validne. Kvantitativne procene nikad nisu „fiksne vrednosti“ već indikacija opsega (raspona) neke verovatnoće, opet sa naznačenim stepenom poverenja u procenu. Takođe, u razvoju modela se često koriste napredne matematičke i statističke metode, što često interpretaciju rezultata i korišćenje modela čini teškim za ljude koji nisu specijalisti na ovim poljima. Stoga, u budućnosti je neophodno uložiti dodatne napore da bi se ovakvi modeli i njihovi rezultati prezentirali i koristili od strane većeg broja ljudi koji se bave bezbednošću hrane.

Iako priznata internacionalna tela (npr. *Codex Alimentarius Commission*, CAC) i mnogi stručnjaci na polju ocene rizika prepoznaju samo dve navedene forme ocene rizika, u poslednje vreme se sve češće pominje i pojam semikvantitativne ocene koja predstavlja nivo između tekstualnog i numeričkog (FAO/WHO, 2009a). Ovaj pristup je konzistentniji i

rigorozniji od kvalitativnog (iako je u principu samo njegova forma), stoga pruža bolje poređenje rizika i bolje određivanje strategija u upravljanju rizikom jer izbegava neke dvosmislenosti koje samo kvalitativna ocena stvara. Često se koristi u razvoju sistema za brzo rangiranje rizika.

Funkcionalna odvojenost ocene rizika od upravljanja rizikom omogućava nepristrasnost same ocene. Međutim, određena interakcija ova dva elementa analize rizika je potrebna u cilju sveobuhvatnog i sistematski sprovedenog procesa ocene rizika (CAC, 1999; FAO/WHO, 2009). Ova interakcija može da uključuje rangiranje hazarda, kao i donošenje nekih neophodnih odluka u procesu ocene rizika, ali je važno da svaki put kada proces upravljanja rizikom utiče na proces ocene rizika, način uticaja i njegov efekat budu transparentni.

Kad god je praktično izvodljivo, proces ocene rizika treba da omogući doprinos svih zainteresovanih strana, koji može da pojača njegovu transparentnost, ali i poboljša kvalitet dodatnom ekspertizom i informacijama, kao i da olakša komunikaciju rizika povećanjem kredibiliteta i prihvatljivosti rezultata ocene rizika (Jouve, 2002).

Naučni dokazi mogu biti ograničeni, nepotpuni ili čak kontradiktorni. U takvim slučajevima, da bi se kompletirala ocena rizika, moraju se upotrebiti jasno navedene pretpostavke (Lammerding *et* Fazil, 2000). Značaj korišćenja kvalitetnih podataka u sprovođenju ocene rizika je u tome da se smanji nesigurnost i poveća pouzdanost ocene rizika. Upotreba kvantitativnih podataka je poželjna koliko god je to moguće, ali ne treba zanemariti i vrednost i korisnost kvalitativnih podataka kada su samo oni dostupni.

Treba imati na umu, da u sprovođenju ocene rizika neće uvek biti dostupno dovoljno resursa, finansijskih ili ljudskih, i da će ta ograničenja uticati na kvalitet rezultata ocene rizika. Stoga je, kad god postoje, za takva ograničenja je neophodno proceniti uticaj na ocenu rizika, i to opisati u formalnom izveštaju (FAO/WHO, 2009a).

Osnovna načela mikrobiološke ocene rizika se mogu sumirati u sledeće (CAC, 1999):

1. Mikrobiološka ocena rizika treba da bude čvrsto zasnovana na nauci.
2. Neophodna je funkcionalna odvojenost između ocene rizika i upravljanja rizikom.
3. Mikrobiološka ocena rizika treba da se sprovodi na strukturiran način koji uključuje identifikaciju hazarda, karakterizaciju hazarda, ocenu izloženosti i karakterizaciju rizika.

4. Pre sprovođenja mikrobiološke ocene rizika treba da se jasno odredi njen cilj, uključujući u kojoj formi će se dati konačni rezultat.
5. Sprovođenje mikrobiološke ocene rizika treba da bude transparentno.
6. Sva ograničenja koja utiču na ocenu rizika poput materijalnih troškova ili nedostatka vremena, treba da se identifikuju i njihove potencijalne posledice opišu.
7. Ocena rizika treba da sadrži i opis nesigurnosti (“*uncertainty*”), kao i naznačena mesta u procesu ocene rizika gde postoji nesigurnost.
8. Podaci koji se koriste u oceni rizika treba da budu takvi da je moguće da se na kraju odredi nesigurnost u oceni rizika; podaci i sistemi za sakupljanje podataka treba da, koliko god je to moguće, budu kvalitetni i precizni da bi nesigurnost u oceni rizika bila što manja.
9. U procesu mikrobiološke ocene rizika neophodno je eksplicitno uzeti u obzir dinamiku rasta, preživljavanja i odumiranja mikroorganizama u hrani, kao i kompleksnost interakcije (uključujući i dugoročne posledice) između čoveka i štetnog agensa u hrani, kao i potencijalno širenje bolesti u populaciji.
10. Kad god je to moguće, ocenu rizika treba validovati poređenjem sa podacima o bolestima ljudi dobijenim nezavisno od procesa davanja ocene rizika.
11. Mikrobiološka ocena rizika može da zahteva ponovno razmatranje (re-evaluaciju), kada novi relevantni podaci postanu dostupni.

4.1.1. Proces ocene rizika

4.1.1.1. Iznošenje svrhe ocene rizika

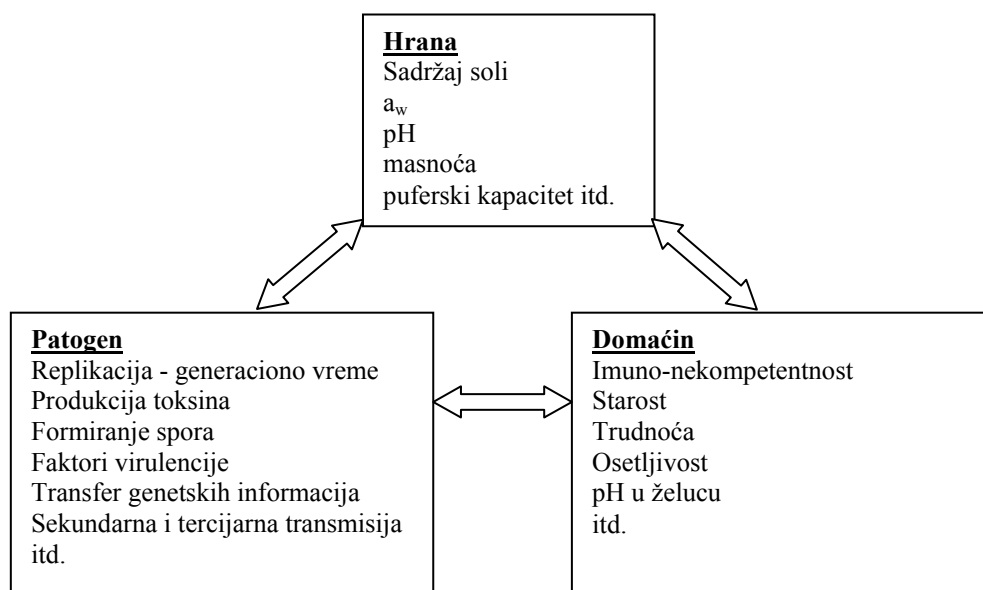
Na početku procesa ocene rizika, neophodno je jasno izneti njenu svrhu i precizno definisati rezultat (“*output*”), ali i potencijalne alternativne rezultate. Ova faza se odnosi na formulisanje problema i namenjena je kreriranju praktičnog okvira i struktuiranog pristupa u oceni rizika. Rezultat ocene rizika može da bude u obliku procene prevalencije neke bolesti ili procene godišnjeg broja slučajeva neke bolesti u određenoj populaciji, kao i procena broja slučajeva i težine posledica bolesti vezane za konzumaciju neke hrane. Mikrobiološka ocena rizika može da zahteva preliminarnu istraživačku fazu (FAO/WHO, 2006a).

4.1.1.2. Identifikacija hazarda

Identifikacija hazarda je proces identifikacije bioloških, hemijskih i fizičkih agenasa koji mogu izazvati neželjene efekte po zdravlje i koji mogu biti prisutni u određenoj hrani ili grupi namirnica (CAC, 1999). U mikrobiološkoj oceni rizika, svrha ovog koraka je da se identifikuju mikroorganizmi ili njihovi toksini koji mogu da se nađu u hrani. U izvođenju formalne ocene rizika, često je u samom pitanju koje postavljaju menadžeri rizika već naveden hazard od interesa. Međutim, u drugim slučajevima, ovo je kvalitativna indikacija hazarda koji mogu biti vezani za konzumaciju određene hrane (Bernard *et* Scott, 1995; Notermans *et* Teunis, 1996). Informacije o hazardima mogu da se dobiju iz naučne literature, iz raznih baza podataka poput onih iz industrije hrane, vladinih agencija, kao i relevantnih međunarodnih organizacija (npr. ICMSF), ali i prikupljanjem mišljenja stručnjaka. Relevantne informacije uključuju podatke iz raznih studija: kliničkih, mikrobioloških, epidemioloških studija i nadzora, studija na laboratorijskim životinjama (iz ranijih perioda), itd. Identifikacija hazarda može da se koristi kao skrining proces u identifikovanju kombinacija patogen-hrana koje su od najvećeg značaja za upravljanje rizikom (Lammerding *et* Fazil, 2000).

4.1.1.3. Karakterizacija hazarda

Karakterizacija hazarda je kvalitativna i/ili kvantitativna ocena prirode negativnih zdravstvenih efekata povezanih sa biološkim, hemijskim i fizičkim agensima koji mogu biti prisutni u hrani (CAC, 1999). Ovaj korak obezbeđuje kvalitativni ili kvantitativni opis težine i trajanja neželjenih efekata kao posledica ingestije mikroorganizma ili njegovog toksina u hrani. Karakterizacija hazarda može biti komponenta ocene rizika, ali i zaseban proces (Forsythe, 2002). Iako je idealno da se karakterizacija hazarda izvrši specifično za vrstu hrane, često je moguće vršiti ekstrapolaciju ovog rezultata i na druge vrste hrane, čak i sa vode na hranu. Ingestija patogena ne mora uvek da znači i nastanak infekcije ili bolesti. Odgovor organizma domaćina (infekcija, bolest, eventualno smrt) na ingestiju patogena varira u zavisnosti od raznih faktora u „trouglu alimentarne bolesti“: patogen-hrana-domaćin (Coleman *et* Marks, 1998) (Grafikon 8).



Grafikon 8 - Faktori koji utiču na infektivnost patogena

4.1.1.3.1 Odnos doza-odgovor

Poželjna karakteristika karakterizacije hazarda, ako postoje relevantni podaci, je uspostavljanje odnosa „doza-odgovor“, odnosno veze između stepena izloženosti domaćina patogenu (doza) i frekvencije i/ili težine posledica od štetnog efekta na zdravlje (odgovor). Izvori podataka za ovaj odnos su studije na dobrovoljcima, zdravstvena statistika populacije, podaci o epidemijama i eksperimenti na životinjama (u ranijim periodima). Postoje četiri moguća odgovora domaćina na ingestiju patogena: infekcija, oboljevanje (morbiditet), oboljevanje sa trajnim posledicama i smrt (mortalitet).

Opšta je pretpostavka da su efekti alimentarnih patogena vezani za njihovu dozu i da nemaju kumulativni efekat kao mnogi hemijski hazardi (Forsythe, 2002). Odnos doza-odgovor je kompleksan i u mnogim slučajevima nejasan. Tako je u jednoj studiji ukazano da je infekcija sa *Campylobacter jejuni* jasno vezana za dozu patogena, ali zato da nastanak bolesti nije (Medema *et al.*, 1996). Sa druge strane, kada je u pitanju *Salmonella*, ukazano je da su veće doze ovog patogena rezultirale češćom pojavom ozbiljnije bolesti (Coleman *et Marks*, 1998).

Donedavno, smatralo se da je za nastanak infekcije ili bolesti neophodna određena doza patogena (koncept infektivne doze). Ovaj pristup je danas prevaziđen, jer se smatra da je za nastanak infekcije dovoljno ingestirati jednu, vijabilnu ćeliju patogena. Drugim rečima,

nezavisno od toga koliko je doza visoka, uvek postoji neka – veća ili manja - mogućnost infekcije ili bolesti (“*single hit*” koncept ili koncept verovatnoće pojave infekcije) (Teunis *et Havelaar*, 2000). „Novi“ koncept podrazumeva doza-odgovor modele, a najzačajniji i najčešće korišćeni su eksponencijalni i beta-Poisson model (Holcomb *et al.*, 1999). Ovakvi modeli su razvijeni za mnoge mikroorganizme: netifoidne *Salmonella* (Fazil *et al.*, 2000; FAO/WHO, 2002; Oscar, 2004), *Cryptosporidium parvum* i *Giardia lamblia* (Medema *et Schijven*, 2001), *E. coli* O157:H7 (Haas *et al.*, 2000; Powell, 2000; Teunis *et al.*, 2004), *Campylobacter jejuni* (Chen *et al.*, 2006), *Shigella* spp. (Crockett *et al.*, 1996), *L. monocytogenes* (Buchanan *et al.*, 1997) itd.

4.1.1.4. Ocena ekspozicije

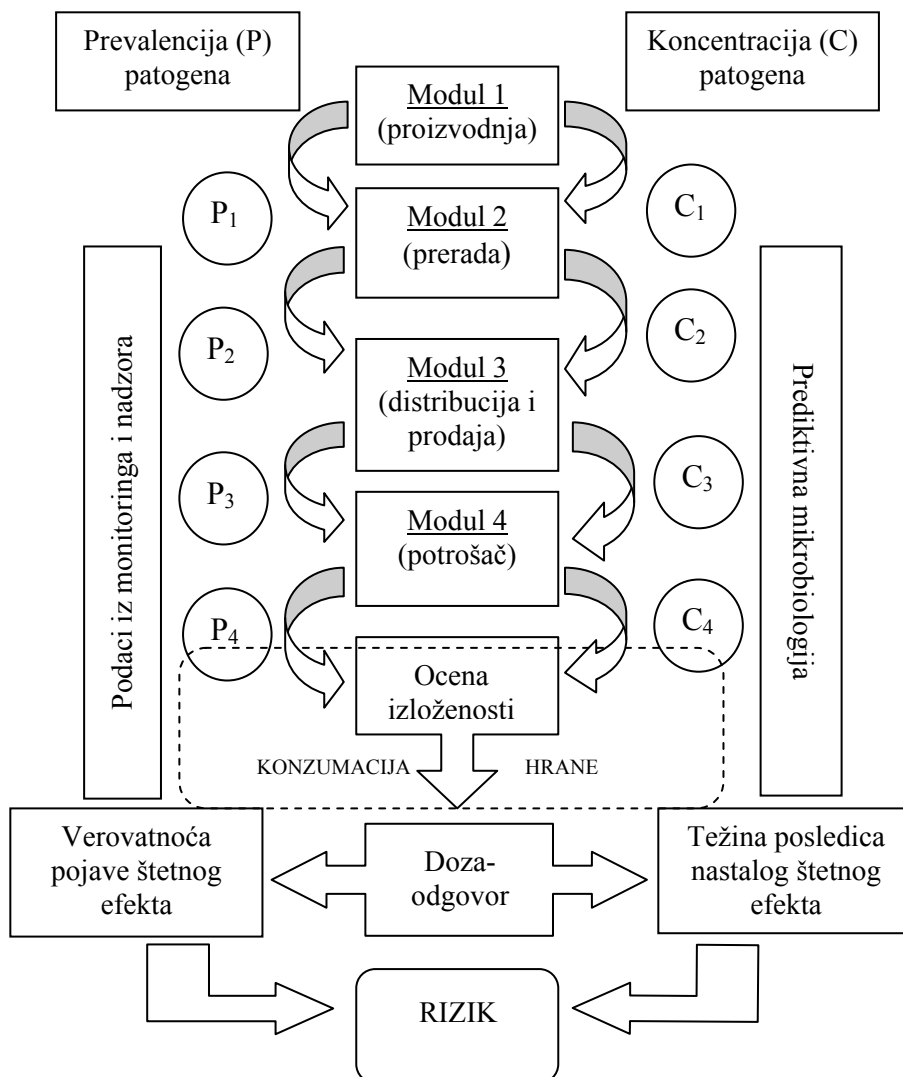
Ocena ekspozicije predstavlja kvalitativnu i/ili kvantitativnu ocenu mogućnosti unošenja biološkog, hemijskog ili fizičkog agensa putem hrane (CAC, 1999). U MRA, predstavlja ocenu mogućnosti unošenja mikrobiološkog agensa u organizam putem hrane i ocenu nivoa (koncentracije) unetog agensa. Ova ocena podrazumeva i jedinicu količine hrane, tj. veličinu (masu) obroka u najčešćem broju slučajeva konzumiranja te hrane.

Ukupno, ovaj element u oceni rizika podrazumeva put (“*risk pathway*“) kojim hazard ulazi u lanac hrane i kojim ide kroz sve tačke u lancu hrane do momenta konzumacije. Uobičajeno je da se ceo ovaj put (ceo model za ocenu rizika od nekog hazarda) deli na manje delove (module) (Grafikon 9). U kvantitativnoj oceni rizika, dva tipa podataka su potrebna: prevalencija i koncentracija hazarda na pojedenim modulima ili delovima modula. Zavisno od okvira ocene rizika, put počinje na različitim tačkama lanca „od njive do trpeze“, ali se uvek završava na tački konzumacije hrane (Whiting *et Buchanan*, 1997; Bemrah *et al.*, 1998; Cassin *et al.*, 1998).

Ocena ekspozicije je uglavnom najkompleksniji aspekt MRA i tu je prisutna najveća nesigurnost (Forsythe, 2002). Veliki broj faktora utiče na populaciju mikroorganizama i svaki od faktora mora biti što preciznije određen, kako bi konačna ocena bila što tačnija. Faktori koji utiču na prisustvo i koncentraciju patogena u hrani su mikrobiološka ekologija hrane, uslovi za razmnožavanje mikroorganizama, inicijalna kontaminacija sirovina, prevalencija infekcije u životinja koje se koriste za hranu, kao i uticaj na mikroorganizme raznih faktora i procesa koji su povezani sa lancem hrane: sanitacija, metode obrade, pakovanja, distribucije i skladištenja hrane, kuvanje i čuvanje hrane, unakrsna kontaminacija i rekontaminacija itd.

Dodatni faktor koji se mora uzeti u obzir u oceni ekspozicije su navike potrošača, a one su vezane za društveno-ekonomske i kulturološke faktore.

Ono što u ovom koraku bitno razlikuje hemijsku i mikrobiološku ocenu rizika je mnogo veća dinamičnost mikrobioloških hazarda, u odnosu na hemijske, zbog mogućnosti da se neki hazardi razmnožavaju u hrani (bakterije, gljivice) ili uginjavaju (svi mikroorganizmi) (Jaykus, 1996; ICMSF, 1998; Nauta, 2002). Stoga je prediktivna mikrobiologija, koja može da predvidi glavne aspekte te dinamike, vrlo koristan alat u oceni ekspozicije (Whiting, 1995; Van Gerwen *et* Zwietering, 1998).



Grafikon 9 - Ocena ekspozicije i karakterizacija hazarda u karakterizaciji rizika

4.1.1.5. Karakterizacija rizika

Karakterizacija rizika je kvalitativna i/ili kvantitativna procena, uključujući i nesigurnost oko parametara modela za karakterizaciju rizika, verovatnoće nastanka i težine poznatih ili potencijalnih negativnih efekata po zdravlje u datoj populaciji na osnovu prethodna 3 koraka: identifikacije hazarda, karakterizacija hazarda i ocene izloženosti hazardu (CAC, 1999). Karakterizacija rizika zavisi od dostupnih podataka i ekspertskih mišljenja. Ako je moguće, uvek treba nastojati da se dobije kvantitativna karakterizacija rizika (npr. broj slučajeva određenog oboljenja u populaciji u nekom vremenu), ali u nedostatku podataka, ova ocena može biti izražena kvalitativno (nizak, srednji ili visok rizik). Podaci koji su kvalitativne i kvantitativne prirode dozvoljavaju samo kvalitativnu ocenu rizika.

Stepen poverenja finalne procene rizika zavisi od varijabilnosti, nesigurnosti i pretpostavki koje su navedene u svakom od prethodnih koraka (FAO/WHO, 2009a). Razumevanje postojanja nesigurnosti i varijabilnosti je važno u posledičnom odabiru opcija prilikom upravljanja rizikom, stoga je vrlo važno da se ova dva elementa razdvoje (EC, 2000; Nauta, 2000). Nesigurnosti vezane za podatke uključuju one koje se javljaju prilikom evaluacije i ekstrapolacije informacija dobijenih u epidemiološkim, mikrobiološkim ili studijama na laboratorijskim životinjama (u ranijim periodima). Biološke varijacije uključuju razlike u virulenciji mikroorganizama i razlike u osetljivosti ljudskih populacija i naročitih subpopulacija. Važno je prikazati uticaj procena i pretpostavki koje su korišćene pri oceni rizika; za kvantitativnu ocenu rizika to je moguće analizom osetljivosti modela i analizom nesigurnosti (Vose, 2000).

Tabela 2 - Primeri publikovanih mikrobioloških ocena rizika za hazarde u mesu

Hazard	Vrsta mesa	Okvir/fokus MRA	Literaturni izvor
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Mleveno goveđe meso	Od farme do potrošača; procena mogućih intervencija u lancu hrane	Cassin <i>et al.</i> , 1998
<i>Campylobacter jejuni</i>	Sveže i mleveno goveđe meso	Od prodaje do potrošača; uticaj na zdravlje ljudi osetljivih i rezistentnih sojeva na antibiotike	Anderson <i>et al.</i> , 2001
	Živinsko meso	Od farme do potrošača; uticaj prakse rukovanja hranom i intervencija u lancu hranu pre potrošača	Rosenquist <i>et al.</i> , 2003
<i>Listeria monocytogenes</i>	RTE crveno i živinsko meso	Od prerade do potrošača; uticaj sanitacije površina u kontaktu sa hranom	Gallagher <i>et al.</i> , 2003
<i>Salmonella</i> spp.	Smrznuto živinsko meso	Od prodaje do potrošača	Brown <i>et al.</i> , 1998
	Sveže živinsko meso	Od klanice do potrošača	Oscar, 1998
	Svinjsko meso i proizvodi od njega	Od farme do potrošača	EFSA, 2010b

4.1.1.6. Formalni izveštaj ocene rizika

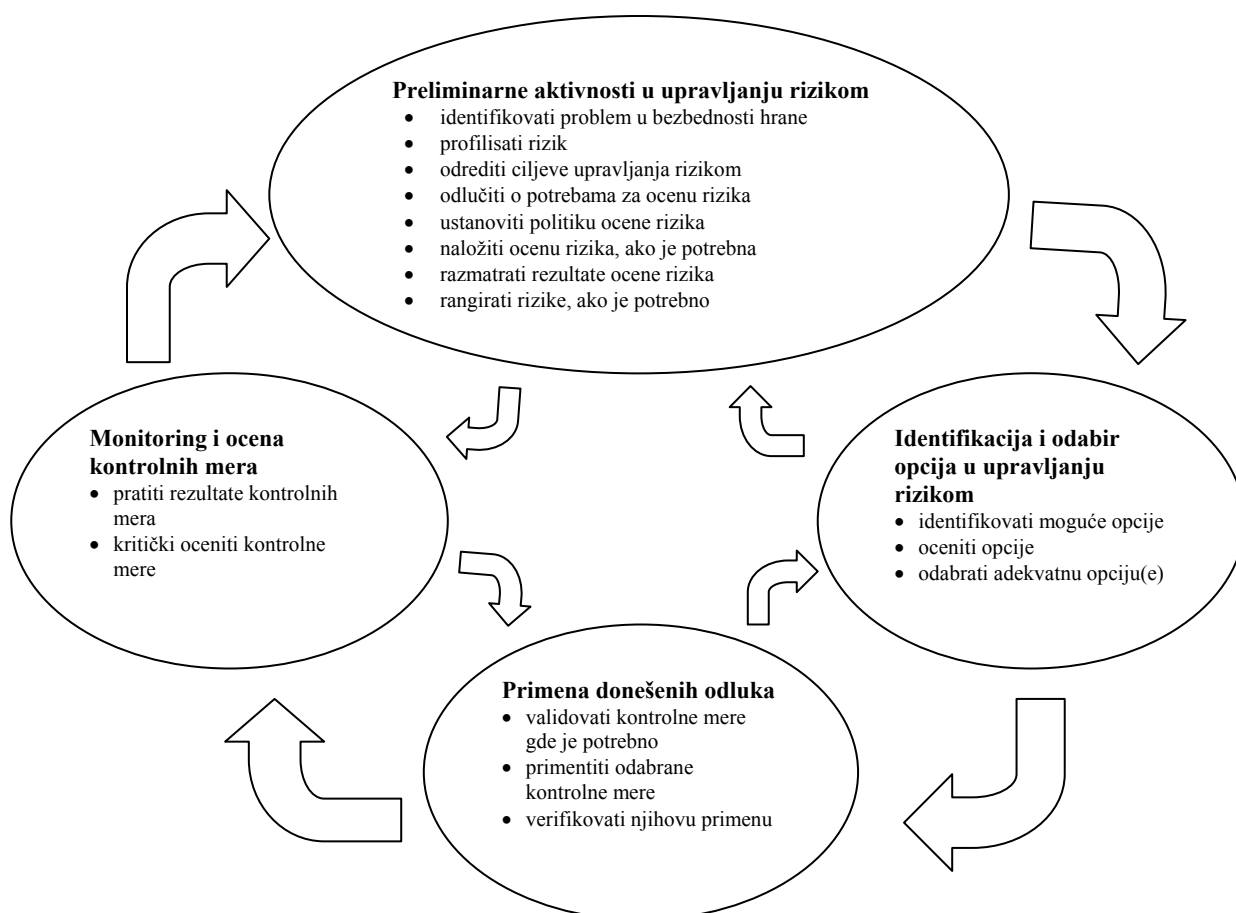
Ocena rizika treba da bude u potpunosti i sistematski dokumentovana. Da bi se osigurala transparentnost, finalni izveštaj treba da jasno ukaže na sve pretpostavke koje su u modeliranju korišćene, kao i sva moguća ograničenja koja utiču na ocenu (npr. nepostojanje podataka). Takođe, važno je i da izveštaj bude široko dostupan.

4.2. Upravljanje rizikom

Upravljanje (menadžment) rizikom predstavlja praktičan i „politički“ proces, odvojen od ocene rizika, koji podrazumeva: a) odmeravanje mogućih načina upravljanja, u dogovoru sa svim zainteresovanim stranama, uzimajući u obzir ocenu rizika i druge faktore značajne za zaštitu javnog zdravlja; i b) odabir kontrolnih opcija, uključujući tu preventivne i mere nadzora (FAO/WHO, 2006a). Ova komponenta analize rizika se zahteva kada epidemiološki podaci i podaci iz nadzora nad nekim patogenom pokažu da je određena hrana potencijalno

vektor bolesti ljudi. Prateći ocenu rizika, odgovarajući koraci u upravljanju rizikom treba da rezultiraju razvojem procedura, praksi i kontrola u rukovanju hranom koje rezultiraju unapređenjem njene bezbednosti uz razvoj standarda i kriterijuma za bezbednost hrane (Notermans *et al.*, 1995). Komisija *Codex Alimentarius*-a je internacionalni upravitelj rizikom kada je u pitanju hrana.

Ceo proces upravljanja rizikom obuhvata četiri aspekta (Grafikon 10): 1) preliminarne aktivnosti u upravljanju rizikom - evaluaciju rizika, 2) procenu opcija u upravljanju rizikom, 3) sprovođenje odluka, i 4) praćenje i ocenu kontrolnih mera.



Grafikon 10 - Generički okvir za upravljanje rizikom (FAO/WHO, 2006a)

Opšti principi u upravljanju rizikom od mikrobioloških hazarda (FAO/WHO, 1997):

1. Strukturiran pristup upravljanju rizikom (Grafikon 10);
2. Zaštita zdravlja ljudi treba da bude primarna briga u razmatranju odluka u upravljanju rizikom;
3. Odluke i postupci u upravljanju rizikom treba da budu transparentni;

4. Određivanje politike ocene rizika treba da bude uključeno kao specifična komponenta upravljanja rizikom;
5. Upravljanje rizikom treba da osigura naučni integritet ocene rizika održavanjem funkcionalne odvojenosti od nje;
6. Odluke u upravljanju rizikom treba da uzimaju u obzir nesigurnost rezultata ocene rizika;
7. Upravljanje rizikom treba da uključuje i jasnu, interaktivnu komunikaciju sa potrošačima i drugim zainteresovanim stranama u vezi svih aspekata tog procesa;
8. Upravljanje rizikom treba da bude kontinuiran proces koji uzima u obzir sve novodobijene podatke prilikom evaluacije i kritičke ocene odluka u upravljanju rizikom.

4.2.1. Primer upravljanja rizikom: koncept HACCP

HACCP je sistem koji identifikuje, procenjuje i kontroliše hazarde značajne za bezbednost hrane (CAC, 1997b). Ovaj sistem je naučno zasnovan protokol koji treba da deluje preventivno i sistematično, koristi ocenu rizika kao alat i da bude dokumentovan i proverljiv. Fokusiran je na predviđanje mogućih problema u vezi bezbednosti hrane i utvrđivanje mera za sprečavanje nastajanja tih problema, odnosno za blagovremeno rešavanje problema ako već nastanu (Puckett *et* Schneider, 1997). Smatra se efikasnim alatom i u okviru zdravstvene službe i u industrije hrane, u cilju prevencije alimentarnih bolesti u svakoj državi (Vela *et* Fernandez, 2003).

U okviru modernog, integrisanog i longitudinalnog pristupa bezbednosti hrane, HACCP može da se primeni na svim tačkama duž celog lanca hrane - „od farme do trpeze”. Međutim, bez obzira na kojoj tački lanca hrane se primenjuje, uspešna primena HACCP-a zahteva potpunu predanost i angažovanost kako zaposlenih u subjektu koji se bavi hranom, tako i nadležnih organa (Blagojevic *et al.*, 2009).

Da bi sistem HACCP mogao da se razvije i da funkcioniše na pravi način u datom subjektu koji se bavi hranom, prethodno je neophodno da budu potpuno razvijeni i primenjeni preduslovni programi: dobra proizvođačka praksa (GMP) i dobra higijenska praksa (GHP). GMP/GHP i HACCP čine nerazdvojne i komplementarne delove jedne celine - upravljanja bezbednošću hrane. Sistem upravljanja bezbednošću (baziran na GMP/GHP i HACCP) i

sistem upravljanja kvalitetom procesa/proizvoda (na primer, baziran na standardima serije ISO 9000) predstavljaju integralne delove globalne strategije potpunog upravljanja kvalitetom (Total Quality Management, TQM) (Grafikon 5).

U razvoju HACCP sistema neophodno je prvo razviti HACCP plan. Svaki HACCP plan je proces- i proizvod specifičan, stoga, mora biti posebno razvijen za svaku individualnu proizvodnu liniju (Da Cruz *et al.*, 2006). Pre nego što se pređe na izvršavanje principa u okviru HACCP plana, neophodno je da se u subjektu koji se bavi hranom sastavi HACCP tim, da se opiše proizvod i identifikuje mu namenjena upotreba, kao i da se konstruiše dijagram toka procesa (CAC, 1993). Opis proizvoda treba da pruži koncizni pregled informacija o najvažnijim karakteristikama samog proizvoda i načina njegove distribucije poput naziva proizvoda pod kojim se stavlja u promet, fizičkih i hemijskih osobina koje su bitne za bezbednost tog proizvoda, naziva ulaznih sirovina i pomoćnih materijala, uslova skladištenja i distribucije, roka upotrebe, načina upotrebe itd. (USDA, 1999). Dijagrama toka procesa treba da pokrije sve korake u proizvodnji. HACCP tim treba da potvrdi tačnost (verifikuje) dijagram toka procesa njegovim pažljivim poređenjem sa stvarnim aktivnostima duž cele linije proizvodnje („na licu mesta“), za vreme svih faza stvarnog rada (FAO, 1998).

HACCP princip 1 - analiza hazarda. Hazard (opasnost) je biološki, hemijski ili fizički agens u hrani ili stanje hrane koji može izazvati štetan efekat na zdravlje ljudi (CAC, 1997b), a analiza hazarda uključuje dva glavna elementa: identifikaciju hazarda i karakterizaciju hazarda. HACCP tim treba da identifikuje i precizno navede sve opasnosti za koje se osnovano očekuje da mogu biti povezane sa proizvodom kao posledica direktne ili indirektna kontaminacije na bilo kojoj tački datog proizvodnog procesa.

HACCP tim ima ulogu da razmotri svaku identifikovanu opasnost da bi odredio koje su opasnosti od posebnog značaja i čija priroda je takva da je njihova eliminacija ili redukcija na prihvatljiv nivo od suštinske važnosti za proizvodnju bezbedne hrane. U to razmatranje, kad god je moguće, treba uključiti:

- utvrđivanje kategorije rizika od prisustva date opasnosti, kroz ocenu verovatnoće pojave te opasnosti i težine njenih štetnih efekata na zdravlje;
- kvalitativnu i/ili kvantitativnu procenu stvarne prisutnosti datih opasnosti u proizvodu;
- razmatranje uslova za preživljavanje ili razmnožavanje datih bioloških hazarda u proizvodu;

- razmatranje sposobnosti stvaranja i uslova za produkciju toksina od strane datih bioloških hazarda u proizvodu;
- razmatranje izvora i puteva dospevanja datih hemijskih i fizičkih hazarda u proizvod;
- razmatranje okolnosti pod kojima dolazi do kontaminacije proizvoda datim hazardima.

HACCP princip 2 - određivanje kritične kontrolne tačke. Kritična kontrolna tačka (CCP) je tačka, korak ili postupak u procesu gde se nadzorom ili kontrolom identifikovana opasnost naročito visokog rizika može efektivno ukloniti ili određenim merama svesti na prihvatljivi nivo (CAC, 1997b). Za svaku opasnost naročito visokog rizika (kao funkcije velike verovatnoće pojavljivanja i/ili ozbiljnih posledica po zdravlje potrošača), mora da postoji jedna ili više CCP na kojoj će se ta opasnost ukloniti ili redukovati na prihvatljiv nivo. U cilju identifikovanja kritične kontrolne tačke, koristi se stablo odlučivanja za CCP. Ovaj metod omogućava, jednostavnim odgovaranjem na postavljena pitanja u okviru algoritamske šeme, da se odredi da li određeni korak u procesu proizvodnje hrane u kom je identifikovana neka opasnost predstavlja kritičnu kontrolnu tačku ili ne.

HACCP princip 3 - Utvrđivanje kritičnog limita. Kritični limit predstavlja kriterijum koji odvaja prihvatljivo od neprihvatljivog (CAC, 1997b). Ove granice moraju da budu zasnovane na naučnim saznanjima, merljive i mora biti izvršena njihova validacija. Određivanje kritičnih granica je uglavnom povezano sa relevantnim informacijama iz propisa, posebnim zahtevima subjekta koji se bavi hranom, kao i preporukama nauke i struke.

Kritične granice moraju biti precizirane i proverene, ako je moguće, za svaku kritičnu kontrolnu tačku. U nekim slučajevima više od jedne kritične granice može biti određeno u jednom procesnom koraku. Kriterijumi ili parametri koji se često koriste uključuju: merenja temperature, vremena, nivoa vlažnosti, pH, aktivnosti vode, nivoa slobodnog hlora, i senzornih svojstava proizvoda kao što su izgled i građa. Kritična granica je najviša ili najniža vrednost određenog parametra koja je prihvatljiva da bi se smatralo da je proces na prihvatljivom higijenskom nivou, kao preduslov da bi proizvod bio bezbedan. Kada se ova vrednost prekorači, smatra se da CCP više nije pod kontrolom. Kritične granice ne mogu biti manje precizne ili blaže od primenljivih vrednosti za takav procesni korak (na primer, temperatura ili vreme hlađenja datog proizvoda) koje su definisane u propisima, ako takvi postoje. S druge strane, nije uvek neophodno da se kritična granica izražava numerički, naročito kod CCP gde se procedure monitoringa i kontrole baziraju na vizuelnom opažanju.

Primer za ovo je da li postoji vidljiva fekalna kontaminacija trupa na liniji klanja ili da li postoji promena nekih fizičkih svojstava hrane za vreme njenog pripremanja u restoranu.

HACCP princip 4 - utvrđivanje procedura monitoringa. Monitoring (sistematsko praćenje) je isplanirano merenje ili posmatranje kritične kontrolne tačke u odnosu na njen kritični limit (CAC, 1997b). Izabrane procedure za monitoring moraju biti takve da mogu da otkriju gubitak kontrole na CCP. Dalje, monitoring treba da u potpunosti obezbedi ovu informaciju na vreme, tako da se može blagovremeno osigurati podešavanje kontrole procesa u cilju sprečavanja prekoračenja kritičnih limita. Kada je moguće, podešavanje kontrole procesa treba da se izvrši čim rezultati monitoringa pokažu trend ka gubitku kontrole na CCP, odnosno pre nego što se odstupanje u procesu zaista desi. Podaci dobijeni iz monitoringa treba da se procenjuju od strane određene osobe koja ima znanje i autoritet da sprovede korektivne mere kada je to potrebno. Ako je monitoring periodičan (nije kontinuiran), onda frekvencija i/ili rezultati monitoringa moraju biti dovoljni da garantuju da je CCP pod stvarnom kontrolom.

Većina postupaka monitoringa nad CCP je bazirana na relativno brzim metodima, pošto su u vezi sa direktnim radnim procesima i zato nema dovoljno vremena za dugotrajna analitička testiranja. Fizičkim i hemijskim merenjima, ukoliko mogu da se koriste kao parametri relevantni za mikrobiološku kontrolu proizvoda, često se daje prednost u odnosu na mikrobiološko testiranje zato što mogu da se urade brže. Svi zapisi i dokumenti vezani za monitoring nad CCPs moraju biti potpisani od strane osobe koja vrši monitoring i od strane odgovornog(ih) lica subjekta koji se bavi hranom.

HACCP princip 5 - utvrđivanje korektivnih mera. Korektivna mera je svaki postupak koji se preduzima kada rezultati monitoringa nad datom CCP pokazuju gubitak kontrole (CAC, 1997b). Specifične korektivne mere moraju biti razvijene za svaku CCP u HACCP sistemu, kojima se rešavaju greške i odstupanja procesa ako/kada se one pojave. Korektivne mere moraju da osiguraju da se CCP dovede pod kontrolu. Preduzete mere moraju takođe da uključuju odgovarajuće uklanjanje i/ili ponovnu preradu neusaglašenog proizvoda, što takođe mora biti dokumentovano u HACCP evidenciji koja se čuva. Korektivne mere su prethodno planirane mere, čija primena počinje onog momenta kada se ustanovi da je došlo do prekoračenja kritične granice na datoj CCP, a koje služe da se:

- a) ponovo uspostavi kontrola nad CCP;

- b) predupredi da potencijalno škodljiva hrana dospe do potrošača; i
- c) spreči da se ponovo desi odstupanje.

HACCP princip 6 - utvrđivanje procedure za verifikaciju. HACCP sistem se mora adekvatno i redovno proveravati, da bi se obezbedila njegova efektivnost i potpuna usklađenost između onoga što je zamišljeno/planirano i onoga što se stvarno dešava u vezi bezbednosti hrane u datom subjektu koji se bavi hranom.

Provere HACCP sistema se sastoje iz dva glavna dela:

- provera tačnosti i kompletnosti plana pre nego što je plan implementiran, koja se naziva validacija;
- provera uspešnosti funkcionisanja nakon implementacije plana, koja se naziva verifikacija.

Validacija se vrši pre implementacije HACCP sistema, a predstavlja potvrdu da su uspešno razvijeni svi elementi HACCP sistema. To znači potvrdu da će HACCP plan, kada se jednom primeni, kontrolisati bezbednost hrane na adekvatan način. Validacija treba da se ponovi kad god nastane neka promena u HACCP planu.

Da bi se izvršila validacija ispravnosti i kompletnosti HACCP plana, prvo treba proveriti okvir plana, relevantne podatke iz preduslovnih programa (GMP/GHP), dijagram toka, analizu opasnosti i stvarnu efikasnost mera za koje je navedeno da će se koristiti za kontrolu opasnosti po bezbednost hrane. Tek potom, proveravaju se identifikacija kontrolnih tačaka, određivanje kritičnih granica, monitoring i planovi korektivnih mera.

Verifikacija HACCP plana je potvrda, nakon njegove implementacije, da je taj plan ispoštovan, efikasno primenjen i da je efektivan – odnosno da su opasnosti za bezbednost hrane pod kontrolom. Za obavljanje verifikacije opisane u HACCP planu je odgovoran sam subjekat koji se bavi hranom, koji je i organizuje. Međutim, u verifikaciju često treba uključiti nezavisne spoljne konsultante/savetnike, koji imaju potrebnu obuku, iskustvo i objektivnost. Osim ako ne postoji druga opcija, ljudi koji su odgovorni za sprovođenje monitoringa i korektivnih mera ne bi trebalo i da učestvuju u verifikaciji HACCP plana. Po svojoj prirodi i pristupu, verifikacija HACCP je vrlo slična zvaničnoj proveri HACCP (auditu), za koju je odgovoran i koju organizuje nadležni organ.

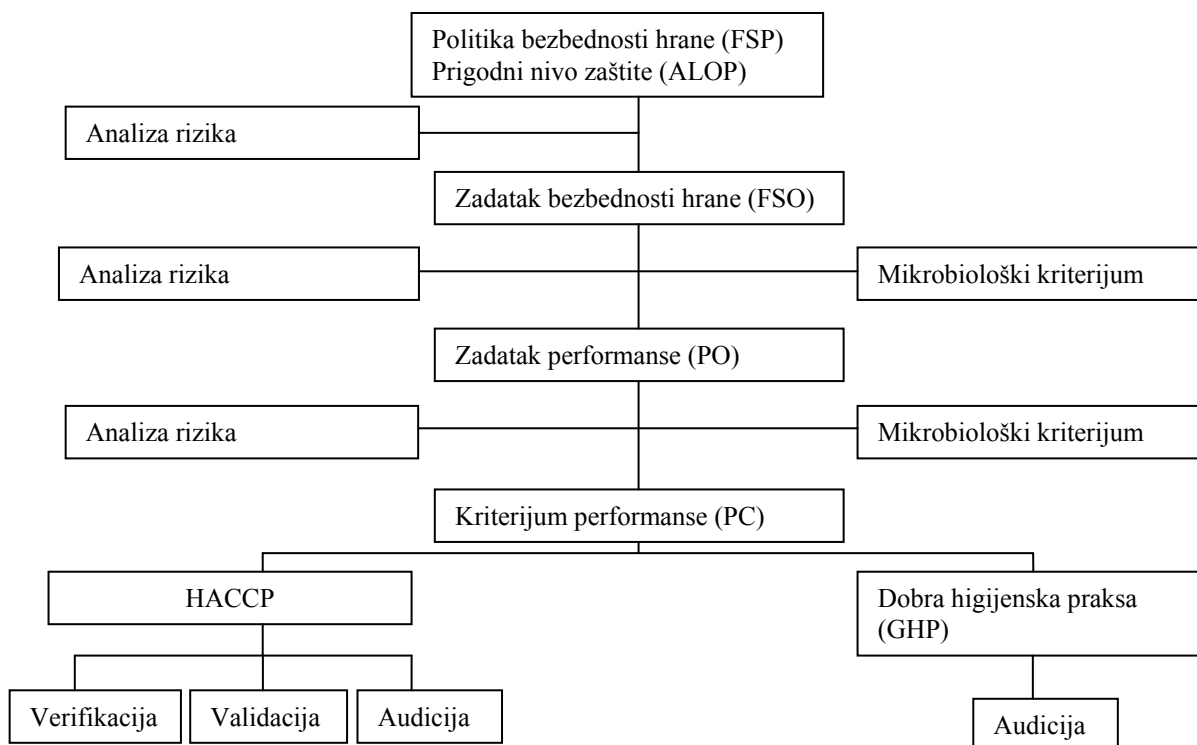
HACCP princip 7 - utvrđivanje procedure za dokumentaciju i evidenciju. Dokumentacija ukupnog sistema bezbednosti hrane, baziranog na HACCP, u datom subjektu koji se bavi

hranom obuhvata kako dokumentaciju koja se odnosi na preduslovne programe (GMP/GHP), tako i na dokumentaciju koja se odnosi na HACCP plan. Uspešno i uredno održavanje dokumentacije je suštinsko u primeni HACCP sistema. Dokumentacija predstavlja pisani dokaz za subjekat koji se bavi hranom, potrošače i one koji vrše kontrolu bezbednosti proizvoda.

Uglavnom, pod dokumentacijom HACCP se podrazumevaju dokumenta HACCP koja se odnose, na primer, na analizu hazarda, određivanje CCP i utvrđivanje kritičnog limita. Pod evidencijom se uglavnom podrazumevaju zapisi HACCP koji se odnose, na primer, na aktivnosti u monitoringu nad CCP, odstupanja od kritičnih granica i korektivne mere vezane za njih, kao i modifikacije koje su naknadno uvedene u HACCP sistem. Svi dokumenti i evidencija treba da budu potpisani od strane odgovornog lica u subjektu, kao i da se jednostavno popunjavaju i ažuriraju.

4.2.2. Primer upravljanja rizikom: koncept *Codex Alimentarius-a*

Vlada zemlje je odgovorna da formulisanje politike bezbednosti hrane (*“food safety policy“*, FSP) i cilja javnog zdravlja koji diktiraju zadatke i kriterijume vezane za hranu, odnosno njenu bezbednost. Okvir analize rizika, utvrđen od strane *Codex Alimentarius-a* sredinom 1990-ih, je učinio mogućim povezivanje aktivnosti po pitanju bezbednosti hrane sa javnim zdravljem putem ocene rizika. Na osnovu koncepta „formalnog pristupa analizi rizika“ koncepti koji su proistekli su prigodni nivo zaštite (Appropriate Level of Protection, ALOP), zadatak bezbednosti hrane (Food Safety Objective, FSO) i zadatak performanse (Performance Objective, PO), kao i kriterijum performanse (Performance Criterion, PC) (Grafikon 11). Međutim, još uvek je nejasno kako će se ovaj, relativno novi „FSO koncept“ koristiti u budućnosti u analizi rizika kao alat u upravljanju rizikom, jer niti je do danas jasno uspostavljen, niti je dosad konzistentno korišćen (EFSA, 2007e).



Grafikon 11 - Koncept *Codex Alimentarius*-a u upravljanju rizikom

4.2.6.1. Prigodni nivo zaštite i postavljanje ciljeva javnog zdravlja

U poslednje vreme su u svetu povećani interes i naponi da se razviju „alati” koji će što efikasnije povezati zahteve programa bezbednosti hrane sa očekivanim uticajem na javno zdravlje. Prigodni nivo zaštite (ALOP) je definisan kao nivo zaštite koji se smatra prigodnim od strane vlade države koja ustanovljava sanitarne mere da bi se zaštili život ili zdravlje čoveka ili životinje u okviru teritorije te države (WTO, 1994). ALOP predstavlja trenutni status javnog zdravlja u odnosu na bezbednost hrane, ali može da se promeni vremenom (na primer, korišćenje nove tehnologije može da promeni nivo nekog kontaminatna hrane). Umesto da nastoji da eliminiše sve hazarde iz lanca hrane, odnosno sa njegove finalne tačke, ALOP nastoji da se javno zdravlje unapređuje postavljenjem ciljeva i posledičnim određivanjem frekvencije i/ili nivoa hazarda u hrani koji su u skladu sa tim ciljem (Zwietering, 2005). Prigodni nivo zaštite se nekada naziva i „prihvatljivi nivo rizika“ (FAO/WHO, 2004a). Ovaj termin je sličan izrazu „nivo rizika koji se toleriše“ koji je preferiran od strane Međunarodne komisije za mikrobiološke specifikacije za hranu (ICMSF) jer prepoznaje da je su rizici vezani za konzumaciju hrane retko prihvatljivi i da su u najboljem slučaju tolerisani.

Prigodni nivo zaštite može da se izrazi na različitim nivoima. Najčešći nivo je ukupna populacija jedne države, ali je nekada bolje ga izraziti na manjoj, specifičnijoj populaciji (npr., ako samo mali deo ukupne populacije konzumira određenu vrstu hrane). ALOP može biti opšti ili specifičan; primer opšteg može biti ukupna incidencija neke alimentarne bolesti u populaciji (salmoneloza), a primer specifičnog incidencija iste te bolesti, ali vezana samo za određenu vrstu hrane (salmoneloza vezana za svinjsko meso).

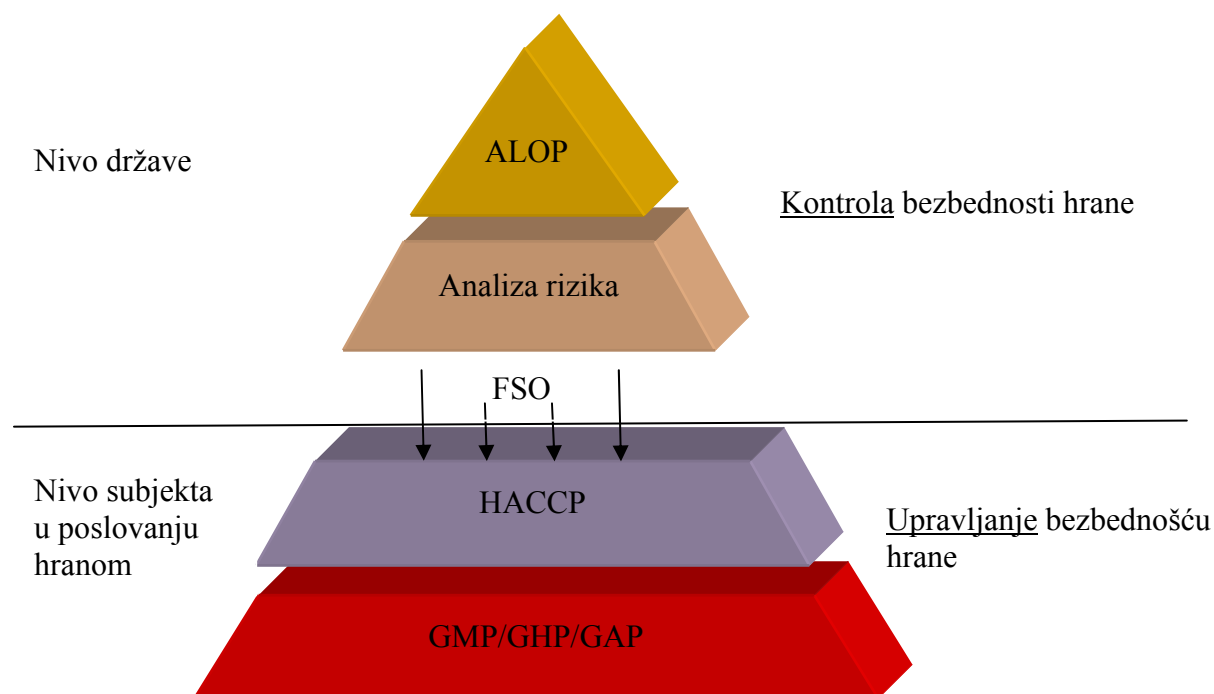
Dok ALOP predstavlja trenutni status javnog zdravlja u odnosu na bezbednost hrane, „ciljevi javnog zdravlja“ su uspostavljeni da podstaknu akcije za poboljšanje statusa javnog zdravlja u budućnosti i da smanje pojavljivanje bolesti izazvanih hranom. Koncept ciljeva javnog zdravlja je skoro uveden i još nije formalno definisan od strane *Codex Alimentarius*-a, stoga još uvek nije ni dovoljno jasna razlika između cilja javnog zdravlja i ALOP; nekada se ova dva pojma podudaraju. Ciljeve javnog zdravlja uglavnom postavljaju vlade zemalja ili njihova tela nadležna za javno zdravlje. Primer cilja javnog zdravlja je zadatak koji je postavila Agencija za standarde hrane Ujedinjenog Kraljevstva 2001. godine: da se incidencija svih alimentarnih bolesti smanji za 20% do 2006. godine (FSA, 2001), što je skoro i ispunila (Bell, 2006).

4.2.6.2. Zadatak bezbednosti hrane

Pošto je jasna teškoća korišćenja cilja javnog zdravlja i/ili ALOP u ustanovljavanju kontrolnih mera, oni moraju da se prevedu u ciljeve i kriterijume koji su merljivi za industriju hrane. Da bi se povezali sistemi bezbednosti hrane u njenoj proizvodnji/preradi/distribuciji sa prigodnim nivoom zaštite, uveden je koncept zadatka bezbednosti hrane. Prema definiciji, zadatak bezbednosti hrane (FSO) predstavlja maksimalnu učestalost i/ili koncentraciju hazarda u hrani u vreme njenog konzumiranja koja obezbeđuje ili doprinosi prigodnom nivou zaštite (CAC, 2001; ICMSF, 2002), tj. odnosi se na tačku u lancu hrane kada promena nivoa hazarda u hrani više nije moguća. Ova definicija se smatra prikladnom za neke proizvode spremne za konzumiranje (RTE) koji imaju određene karakteristike koje ne dozvoljavaju razmnožavanje ili čak širenje hazarda (Walls *et* Buchanan 2005; Zwietering, 2005) ali se ne smatra realnom za proizvode koji se termički tretiraju neposredno pre konzumacije (Nauta *et* Havelaar, 2008). Pošto se pomenuta definicija koja se odnosi na momenat konzumacije hrane ne smatra kompatibilnom sa metodima i rezultatima ocene rizika, i pošto se vrednost FSO izvedena iz

QMRA modela dovodi u pitanje, alternativna definicija je predložena za FSO: „limit u prevalenciji i prosečnoj koncentraciji mikrobiološkog hazarda u hrani, na odgovarajućem koraku u lancu hrane na ili blizu tačke konzumacije koji obezbeđuje ALOP” (Havelaar *et al.*, 2004).

Kada god je moguće FSOs treba da su kvantitativno izraženi i da ih je moguće verifikovati. Primer FSO je maksimalna koncentracija *L. monocytogenes* u RTE hrani u momentu konzumiranja od 100 CFU/g ili maksimalna koncentracija stafilokoknog enterotoksina od 1µg u 100g sira. Međutim, ovo ne znači da FSOs moraju da se uvek verifikuju mikrobiološkim testiranjem. Na primer, za nisko (slabo) kiselu konzerviranu hranu FSO može da se ustanovi i kao verovatnoća prisutnosti vijabilne spore *Clostridium botulinum* od 0.000000000001 u jednoj konzervi. Ovaj FSO je nemoguće verifikovati testiranjem krajnjeg proizvoda, ali ga je moguće verifikovati merenjem vreme/temperatura protokola koji je baziran na kriterijumu performanse. Kada je reč o odgovornosti u zadacima bezbednosti hrane - u savremenom, integrisanom sistemu bezbednosti hrane, proizvođač je najviše odgovoran za postizanje FSO, a nadležna tela/vlada imaju više ulogu konsultanta donošenjem legislative, izdavanjem uputstava i preporuka i vršenjem audicije programa bezbednosti hrane.



Grafikon 12 - FSO kao veza kontrole bezbednosti hrane na nivou sa upravljanjem bezbednošću hrane na nivou poslovanja hranom (Gorris, 2005)

4.2.6.3. Zadatak performanse

Kao i za FSO, probitna svrha zadatka performanse (PO) bila je da se ALOP prevede na nivoe hazarda u lancu hrane kojima može da se komunicira i upravlja od strane industrije hrane. Zadatak performanse predstavlja najveću učestalost i/ili koncentraciju hazarda u hrani na određenoj fazi lanca hrane pre njene upotrebe, koja obezbeđuje ili doprinosi FSO ili ALOP (WTO, 1994). Za razliku od FSO, PO može da se koristi na tačkama lanca hrane gde je verifikacija uvek moguća (FAO/WHO, 2006b), a FSO je vrednost koja treba da vodi razvijanju PO, ranije u lancu hrane (Gorris, 2005). Takođe, u kvantitativnoj mikrobiološkoj oceni rizika, FSO može da se posmatra kao poslednji PO, pre nego što se primeni model doza-odgovor (Nauta *et* Havelaar, 2008).

Kvantitativni odnos FSO i PO je različit u različitim situacijama. Kada je reč o hrani koja se termički tretira neposredno pre konzumacije FSO je striktniji od PO. Na primer, FSO za *Salmonella* u piletini koja je termički obrađena može biti „odsustvo u porciji za konzumiranje”. Pošto je izvesno da jedan broj brojlera sadrži ovaj patogen i da će ga jedan deo obrađenih trupova sadržati, moguće je postaviti PO: na primer, maksimalno 15% trupova posle hlađenja može da sadrži *Salmonella*. U narednim stadijumima u lancu hrane, uz primenu GHP i odgovarajućeg termičkog tretmana može se postići zadati FSO. Sa druge strane, kada je reč o hrani spremnoj za konzumiranje (RTE), FSO i PO mogu da predstavljaju istu vrednost ili čak da PO bude strožiji od FSO, na primer, u slučaju RTE hrane sa relativno dugim propisanim rokom upotrebe u kojoj *Listeria monocytogenes* može da se razmnožava.

4.2.6.4. Kriterijum performanse i procesni kriterijum

Kriterijum performanse (PC) i procesni kriterijum (PrC) pripadaju merama upravljanja rizikom koje se primenjuju na nivou kompanije koja se bavi hranom. Kriterijum performanse predstavlja uticaj na učestalost i/ili koncentraciju hazarda u hrani koja se mora postići primenom jedne ili više kontrolnih mera da bi se obezbedio ili doprinelo zadatku performanse ili zadatku bezbednosti hrane (CAC, 2005). Najčešći primeri PC je redukcija nekog patogena prilikom termičke obrade (redukcija broja *Salmonella* od 6D prilikom termičke obrade mlevenog goveđeg mesa), ali primer može biti i ograničavanje rekontaminacije ili razmnožavanja nekog patogena.

Procesni kriterijum se definiše kao kontrolni parameter na određenom koraku u procesu (npr. vreme, temperatura, pH, aktivnost vode) koji se primenjuje da bi se postigao zadatak performanse ili kriterijum performanse (CAC, 2005). Na primer, kontrolni parameter pri kom će se postići redukcija od najmanje 6 log *L. monocytogenes* u mleku je: 71.7°C tokom 15 sekundi (ICMSF, 1996). Procesni kriterijumi se podudaraju sa kritičnim limitima na kritičnim kontrolnim tačkama u HACCP planu (CAC, 1997b).

4.3. Komunikacija rizika

Komunikacija rizika je interaktivni proces otvorene razmene informacija i mišljenja kroz proces analize rizika u vezi hazarda i rizika od njega, faktora koji se odnose na rizik i percepcije rizika, između ljudi koji ocenjuju rizik, ljudi koji upravljaju rizikom, potrošača, industrije, akademske zajednice, kao i drugih zainteresovanih strana (FAO/WHO, 1999). Komunikacija rizika mora da bude transparentna i da dovodi do boljeg razumevanja rizika i odluka zasnovanih na oceni rizika. Osnovni cilj komunikacije rizika je da obezbedi sadržajnu, relevantnu i tačnu informaciju na način koji je razumljiv određenom auditorijumu, kao i da doprinese širem razumevanju i prihvatanju odluka onih koji upravljaju rizikom.

Ciljevi komunikacije rizika (FAO/WHO, 1999; Forsythe, 2002):

1. Promovisati svest i razumevanje specifičnih pitanja tokom procesa analize rizika, od strane svih učesnika;
2. Promovisati konzistentnost i transparentnost u donošenju i sprovođenju odluka prilikom upravljanja rizikom;
3. Obezbediti čvrstu osnovu za razumevanje predloženih ili primenjenih mera u upravljanju rizikom;
4. Poboljšanje sveukupne efektivnosti i efikasnosti procesa analize rizika;
5. Doprinos razvoju i pružanju efikasnog informisanja i obrazovnih programa, kada su to izabrane opcije u upravljanju rizikom;
6. Podsticanje poverenja javnosti u bezbednost snabdevanja hranom;
7. Jačanje odnosa u radu i uzajamnog poštovanja među svim učesnicima;
8. Promovisanje odgovarajućeg učešća svih zainteresovanih strana u procesu komunikacije rizika;

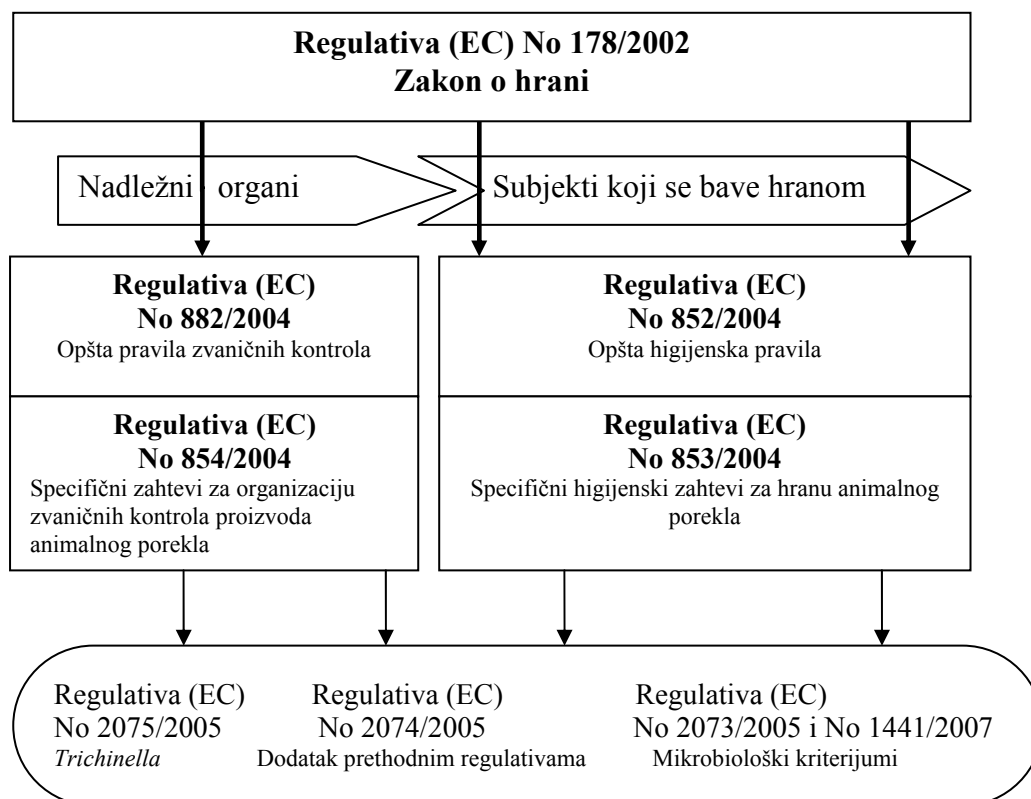
9. Razmena informacija o znanju, stavovima, vrednostima, praksi i percepciji zainteresovanim stranama po pitanju rizika u vezi sa hranom i srodnim temama;
10. Jačanje poverenja javnosti u bezbednost snabdevanja hranom.

Kada je reč o elementima efikasne komunikacije rizika, poruke komunikacije rizika bi trebalo da sadrže informacije o: prirodi rizika (karakteristike hazarda, moguće posledice, urgentnost situacije, ugrožene grupe), nesigurnosti u oceni rizika (metodi ocene, podaci, pretpostavke, efekti eventualnih promena u oceni na upravljanje rizikom), opcijama u upravljanju rizikom (efektivnost, benefiti, troškovi), ali i o benefitima postojanja hrane koja može biti vektor bolesti na tržištu (FAO/WHO, 1999).

Osnovni preduslov za uspešnu komunikacije rizika je da auditorijum bude poznat. Takođe, u komunikaciji o riziku neophodno je i uključivanje naučne ekspertize u komunikaciji o riziku, odnosno da oni koji rizik ocenjuju i objasne svoju ocenu auditorijumu. Dalje, važno je da se sama komunikacija sprovodi na stručan način (uključivanje tehničke ekspertize u komunikaciji) i da se sve sprovodi na transparentan način. Odgovornost u komunikaciji rizika je na svim stranama uključenim u analizu rizika (država, industrija, mediji...) (FAO/WHO, 1999).

II - 5. KRATAK PREGLED GLAVNIH ASPEKATA/ELEMENATA BEZBEDNOSTI MESA U EU „HIGIJENSKOM PAKETU 2004”

Pod “Higijenskim paketom 2004” se podrazumeva skup uredbi, pre svega veterinarskih, koje su usvojili Evropski parlament i Savet EU 2004. godine, te su obavezni u EU kao i državama koje izvoze hranu u EU od januara 2006. godine. Ovaj paket je sačinjen od četiri propisa (Grafikon 13) koji proističu iz EU Zakona o hrani, a nadograđen je sa propisima donešenim narednih godina.



Grafikon 13 - Propisi „Higijenskog paketa 2004“

Propisi iz ovog paketa stavljaju veću odgovornost subjekta koji posluje hranom u proizvodnji bezbedne hrane, dok nadležni organi verifikuju ispravnu implementaciju ovih propisa. Ova legislativa se bavi raznim tipovima hrane i pokriva ceo lanac hrane. Sva proizvodnja treba da bude zasnovana na GHP i HACCP principima, a proizvodi su predmet mikrobioloških kriterijuma i temperaturnih limita. Dve regulative (852/2004 i 853/2004) se odnose direktno na subjekte u poslovanju hranom, a dve na nadležne organe (854/2004 i 882/2004).

Regulativom o higijeni namirnica 852/2004 definisani su opšti higijenski zahtevi koje su subjekti u poslovanju hranom obavezni da poštuju u svim fazama lanca hrane, uključujući

primarnu proizvodnju. Ova regulativa zahteva da subjekti u poslovanju hranom razviju, primene i održavaju stalne procedure zasnovane na HACCP principima, sa izuzetkom primarne proizvodnje. Naravno, pre razvoja HACCP sistema, neophodno je obezbediti preduslovne programe koji su predstavljeni u aneksu ovog pravilnika. Takođe, ovaj pravilnik dozvoljava određenu fleksibilnost u implementaciji procedura zasnovanih na HACCP-u u malim subjektima. Posebno je naglašen sistem samokontrole i odgovornosti svih učesnika u lancu proizvodnje hrane koji moraju da osiguraju njenu zdravstvenu bezbednost.

Regulativa 853/2004 je specifičnija od prethodne i propisuje higijenske zahteve koji se moraju poštovati od strane subjekata koji posluju hranom animalnog porekla na svim fazama lanca hrane osim faze prodaje hrane krajnjem potrošaču. Ovim pravilnikom su, između ostalog, obuhvaćena opšta načela transporta životinja u klanicu, zahtevi za klanice i objekte za rasecanje mesa po pitanju izgradnje, uređenja i opreme, potom načela higijene tokom klanja životinja i obrade trupova, rasecanja i otkoštavanja mesa. Ovom regulativom se propisuju i prinudno klanje, kao i uslovi skladištenja i transporta mesa. Takođe, i u ovoj regulativi je istaknuto da HACCP program mora biti validovan i pravilno implementiran.

Regulativa 854/2004 propisuje specifična pravila za organizaciju zvaničnih kontrola proizvoda životinjskog porekla koji su namenjeni da se konzumiraju od strane ljudi. U njoj su navedena pravila službenih veterinarskih kontrola koje obuhvataju proveru informacija iz lanca hrane, *ante-mortem* pregled, proveru sprovođenja propisa o dobrobiti životinja, *post-mortem* pregled, nadzor nad rizičnim materijalom i sporednim proizvodima klanja, kao i laboratorijske analize. Takođe, u ovoj regulativi se navodi da moderna inspekcija mesa treba da bude zasnovana na oceni rizika i da se sprovodi na način koji izbegava unakrsnu kontaminaciju u klanici. Dalje, da inspekcija mesa može da se unapredi primenom striktnijih higijenskih mera na nivou farme i zahtevanjem od farmera da na klanje šalju čiste životinje i relevantne informacije o odgoju i zdravstvenom statusu (FCI).

Pored Regulative 854/2004 koja se odnosi na službene kontrole namirnica životinjskog porekla, Regulativom 882/2004 obuhvaćene su i službene kontrole koje se sprovode radi verifikacije sprovođenja Zakona o hrani i hrani za životinje, te propisa o zdravlju i dobrobiti životinja. Uredba se odnosi na način organizacije službenih kontrola, nadležnih tela, laboratorija, uzorkovanja itd.

5.1. Inspekcija mesa

Svrha inspekcije mesa je identifikovanje i uklanjanje iz lanca hrane mesa koje nije podesno za ljudsku ishranu, odnosno koje potencijalno sadrži alimentarne hazarde ili nije prihvatljivo iz estetskih razloga (Murray, 1986; Edwards *et al.*, 1997). Ne postoji univerzalan „vodič” za inspekciju mesa koji pokriva sve situacije; umesto toga ovlašćeni veterinar (veterinarski inpektor) je taj koji donosi odluku o upotrebljivosti mesa. Inspekcija se sastoji iz dva dela: pre klanja - analiza informacija iz lanca hrane i *ante-mortem* inspekcija i nakon klanja životinja - *post-mortem* inspekcija.

5.1.1. Informacije iz lanca hrane

Informacije iz lanca hrane (Food Chain Information, FCI) predstavljaju sve relevantne podatke o životinjama namenjenim klanju od njihovog rođenja, preko svih stadijuma odgoja do dana klanja koje ovlašćenom veterinaru u klanici pružaju odgovarajuće smernice u trenutku pregleda životinja pre klanja, kao i tokom pregleda mesa i organa nakon klanja.

Prema Regulativi EC 853/2004, subjekti koji se bave klanjem životinja moraju da zahtevaju, primaju, proveravaju i reaguju na osnovu informacija iz lanca hrane. Odgovorna lica ne smeju da prime životinje u prostorije klanice ukoliko nisu tražili i dobili odgovarajuće informacije iz evidencije gazdinstva/farme sa kojeg životinje potiču u skladu sa Regulativom EC 852/2004. Te informacije moraju dobiti najkasnije 24 časa pre prispeća životinja u klanicu, a najbolje kompjuterskim sistemom. Ovo je neophodno da bi se izbegao nepotreban transport životinja čije klanje inače neće biti dozvoljeno. Neophodne su relevantne informacije o:

- (a) statusu gazdinstva/farme sa kojeg životinje potiču ili zdravstvenom statusu životinja u regionu;
- (b) zdravstvenom stanju životinja koje se šalju na klanje;
- (c) veterinarskim lekovima ili drugoj terapiji koju su životinje primale u nekom određenom periodu, kao i o periodu karence, zajedno sa datumima primene terapije i perioda isteka karence;
- (d) pojavi oboljenja koje može uticati na ispravnost mesa;
- (e) rezultatima, ako su relevantni za očuvanje javnog zdravlja, bilo kojih analiza koje su rađene na uzorcima uzetim od životinja ili drugim uzorcima uzetim radi

dijagnostikovanja oboljenja koja mogu uticati na ispravnost mesa, uključujući tu i uzorke uzete radi monitoringa i kontrole zoonoza i rezidua;

(f) odgovarajućim prethodnim nalazima *ante-* i *post-mortem* inspekcije životinja sa istog gazdinstva/farme;

(g) podacima o proizvodnji životinja, kada mogu da ukažu na pojavu nekih oboljenja;

(h) veterinaru koji je angažovan na gazdinstvu/farmi porekla.

Ukoliko se bilo koja životinja dopremi u objekat za klanje bez podataka iz lanca hrane, subjekat koji se bavi hranom mora odmah obavestiti veterinarskog inspektora i ne sme se pristupiti klanju životinje dok/ako veterinarski inspektor to ne odobri.

Ukoliko nadležni organ to dozvoli, informacije iz lanca hrane mogu stići u klanicu istovremeno sa životinjama na koje se odnose u slučaju:

- svinja, živine ili uzgajane divljači koje su već prošle *ante-mortem* pregled na gazdinstvu/farmi porekla, ukoliko uz njih stiže i potvrda izdata od strane veterinaru da su životinje pregledane na gazdinstvu/farmi i da su zdrave;

- životinja koje su prinudno zaklane, ukoliko je uz njih priložena potvrda koju je potpisao veterinar, i u kojoj piše da je ishod *ante-mortem* inspekcije povoljan.

Prema Regulativi EC 854/2004, zvanični veterinar treba da proveriti i analizira relevantne informacije iz evidencije gazdinstva sa koga potiču životinje namenjene za klanje, kao i da uzme u obzir dokumentovane rezultate te provere i analize tokom sprovođenja *ante-mortem* i *post-mortem* inspekcije (potvrde i uverenja izdata od strane veterinaru koji vrše kontrolu na nivou primarne proizvodnje).

Kada subjekti koji se bave hranom preuzimaju dodatne mere u svrhu garantovanja bezbednosti namirnica primenom integrisanih sistema, sistema privatne kontrole, sertifikata nezavisne treće strane ili na drugi način, i kad su navedene mere dokumentovane i životinje koje su na ovaj način pokrивene ali i jasno identifikovane, zvanični veterinar ovo može uzeti u obzir tokom vršenja inspekcije i razmatranja procedura zasnovanih na HACCP-u.

Prema Regulativi EC 2074/2005, predstavnik nadležnih organa u klanici (zvanični veterinar, veterinarski inspektor) treba da verifikuje da:

1. postoji efikasna i konzistentna komunikacija informacijama iz lanca hrane između klanice i farme porekla životinja;
2. informacije iz lanca hrane su validne i pouzdane;
3. obezbeđuju se povratne informacije iz klanice na farmu porekla životinja.

5.1.1.1. Koncept integrisanog sistema proizvodnje i glavni elementi FCI

Sistemi za proizvodnju životinja mogu da se podele na integrisane i neintegrisane. Integrisani sistemi su oni čije je funkcionisanje zasnovano na dobroj farmskoj praksi (GFP), dobroj higijenskoj praksi (GHP) i principima HACCP, a takođe i sistemima osiguranja kvaliteta (QA) koji obezbeđuju kontrolu nad i dostupnost odgovarajućih informacija o navedenim elementima (Buncic, 2006):

Identifikacija, kretanje, sledljivost. Moraju da postoje sistemi za beleženje kretanja životinja (od rođenja do klanja) i za individualnu identifikaciju životinja ili grupa životinja iste vrste. Generalno, životinje kojima su više menjana mesta boravka, predstavljaju veći epidemiološki rizik.

Epidemiološki podaci. Programi monitoringa i nadzora daju podatke za detekciju promena u prevalenciji bolesti i/ili agenasa u životinja i hrani i daju informacije o bazičnom stanju koje su potrebne za ocenu rizika, a omogućuju objektivno donošenje odluka od strane onih koji upravljaju rizikom i ocenu efikasnosti primenjenih kontrolnih mera. U EU je prema Direktivi 2003/99/EC obavezno sakupljanje i diseminacija epidemioloških podataka na nivou zemalja članica i cele EU, ali su za svrhu FCI vrlo važni i „lokalni“ epidemiološki podaci.

Lekovi i veterinarski tretmani. Moraju da se primenjuju na adekvatan način i uz vođenje evidencije, jer rezidue lekova u jestivim tkivima predstavljaju rizik za javno zdravlje. Neophodno je poštovanje karence i da se lekovi bezbedno čuvaju i odlažu.

Farmski menadžment. Relevantne informacije koje će omogućiti odgovarajuću ocenu rizika koje životinje predstavljaju treba da se dobiju sa svake farme koja šalje životinje u klanicu. Životinje moraju da se drže pod dobrim stočarskim standardima i dobiti od strane kompetentnih rukovaoca. Podaci o farmama treba da se adekvatno analiziraju, a obuhvataju širok spektar podataka o stočarskoj proizvodnji koji uključuju frekvenciju inspekcija životinja, tretman životinja lekovima, hirurške operacije, uklanjanje rogova i podsecanje repova, postupke sa novorođenim životinjama, korišćenje pašnjaka, kontrole pasa itd.

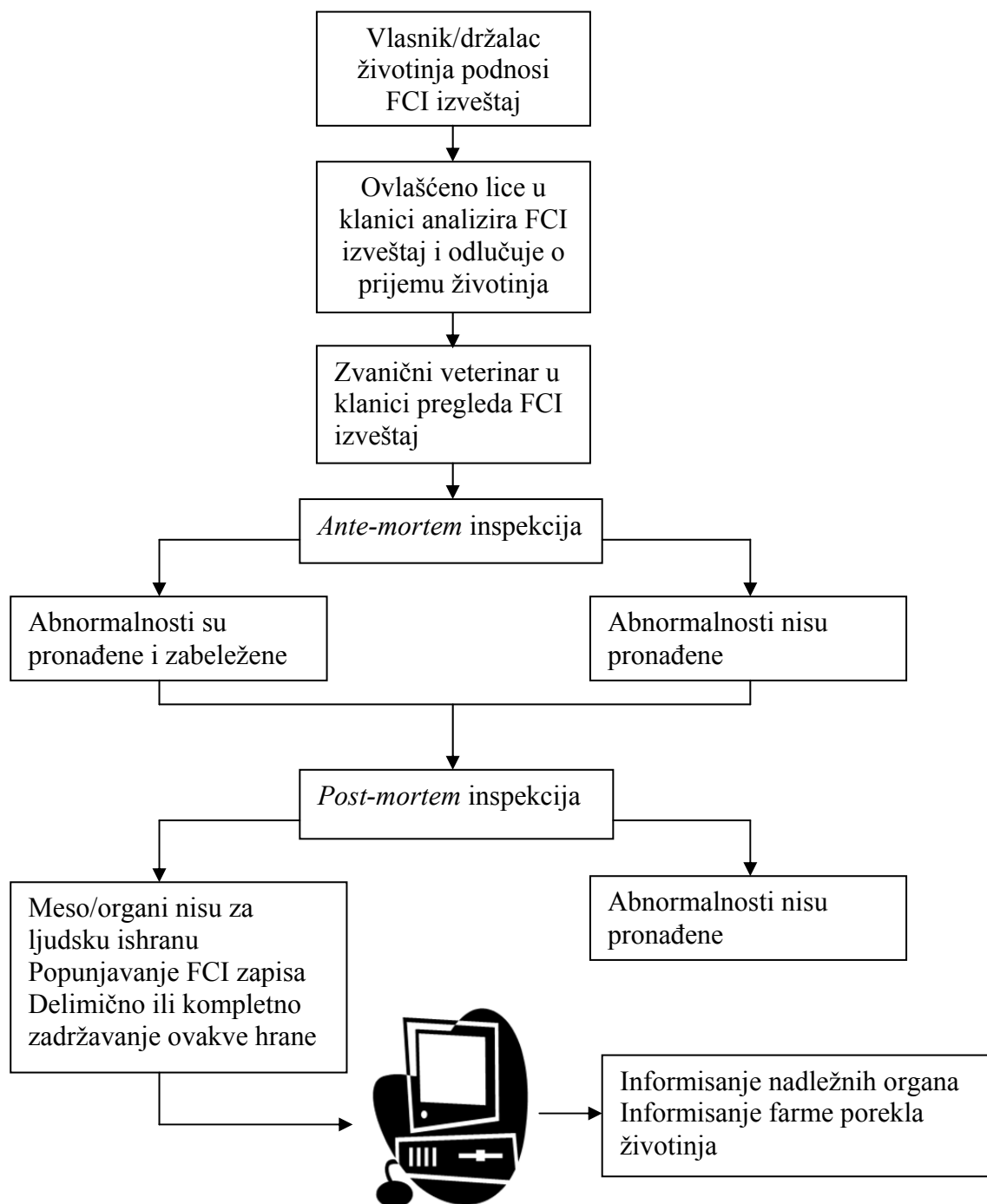
Sredina i higijena na farmi. Na farmi moraju da postoje sistemi za sprečavanje kontaminacije životne sredine i širenja zaraznih bolesti. Ovo uključuje adekvatno uklanjanje đubreta i otpadnih materijala, uklanjanje uginulih životinja, izolaciju bolesnih životinja, redovnu dehelmintizaciju pasa, čistoću životinja i biološku bezbednost (“*biosecurity*“) na farmi.

Hrana za životinje (sastav, način skladištenja i upotrebe). Životinje moraju da se hrane odgovarajućom hranom skladišenom pod odgovarajućim uslovima. Kontaminanti i rezidue u stočnoj hrani mogu posledično da se nađu i u mesu životinja. Stoga, podaci o snabdevačima stočnom hranom, deklaraciji i sastavu, uslovima transporta i skladištenja, kao i o ispitivanjima na hazarde, moraju da se dobiju i analiziraju. Mora se posvetiti pažnja biološkoj bezbednosti hraniva skladištenih na farmi, kao i kontroli štetočina i divljih životinja jer hraniva mogu lako da se kontaminiraju patogenima posredstvom kontakta sa insektima i pticama.

Smeštaj životinja. Smeštaj životinja na farmi mora biti odgovarajući i bezbedan i da omogući rukovanje životinjama. Uključuje odgovarajuću strukturu i veličinu, osvetljenje i instalacije, kao i metode čišćenja.

Proizvodni parametri. Odgovarajući proizvodni parametri (npr. stopa rasta, konverzija hrane) su važni jer ukazuju na zdravstveni status i dobrobit životinja.

Zdravstveni planovi stada. Ovi podaci su među najvažnijim sa aspekta FCI.



Grafikon 14 - Stadijumi u „FCI ciklusu“ u UK (MHS, 2005)

5.1.2. *Ante-mortem* inspekcija

Ante-mortem inspekcija predstavlja važan deo u oceni zdravlja životinja namenjenih klanju u kontekstu bezbednosti mesa. Tradicionalno, njen cilj je da se idenifikuju (1) životinje koje mogu da prenesu bolest na druge životinje ili ljude, (2) životinje koje pokazuju kliničke

znake sistematskog oboljenja usled koga je meso nepodesno za ishranu ljudi i (3) životinje koje se smatraju podesnim za ljudsku ishranu. Stoga je uloga ovlašćenog veterinaru u fazi pre klanja zaštita javnog zdravlja od zoonotskih oboljenja i zaštita zdravlja životinja nadzorom bolesti, a naročito bolesti koje podležu obaveznom prijavljivanju. Takođe, njegov posao je i zaštita dobrobiti životinja brigom o uslovima transporta, obezbeđivanjem odmora ako je potreban, odvojenim držanjem različitih kategorija životinja (npr. bikovi i junice, životinje sa rogovima i obezrožene itd.) i odgovarajućom brigom o povređenim i slabim životinjama. *Ante-mortem* inspekcija ima ulogu da grupiše životinje u tri šire kategorije: 1. životinje koje se prosleđuju na „rutinsko“ klanje; 2. životinje koje moraju biti uklonjene iz lanca hrane; 3. životinje koje zahtevaju dalje, detaljnije ispitivanje nakon klanja ili koje je potrebno klati odvojeno. Prilikom *ante-mortem* inspekcije, veterinarski inspektor ocenjuje zdravstveno stanje životinja posmatrano iz raznih uglova prilikom pokreta i za vreme odmora.

Prema Regulativi 853/2004, u klanici je za obavljanje *ante-mortem* inspekcije potrebno obezbediti adekvatno prirodno ili veštačko svetlo (jačine 540 lx) i adekvatan prostor kako bi veterinarski inspektor imao pristup svakoj životinji (osim kada su u pitanju lagomorfi i živina). Neophodno je i da objekat u kome se drže životinje pre klanja ima odvojen boks za izolaciju sumnjivih životinja, kao i uređaj za fiksiranje životinje za detaljno individualno ispitivanje, a ukoliko je veterinaru potrebno, uprava klanice treba da obezbedi i pomoćno osoblje. Preduslov za *ante-mortem* inspekciju životinja je da je utvrđen njihov identitet i da ih prate odgovarajuća veterinarska uverenja, odnosno informacije iz lanca hrane (FCI), a prema Regulativi EC 854/2004, vrši se najviše 24 časa posle dolaska životinja u klanicu, najviše 24 časa pre klanja, a dodatno i u drugo vreme na zahtev ovlašćenog veterinaru.

Pored navedenih osnovnih ciljeva *ante-mortem* inspekcije, ona treba da služi i da se identifikuju povređene, iscrpljene ili stresirane životinje koje moraju da se odmaraju, kao i da se identifikuju životinje sa indicijama da sadrže farmakološki aktivne supstance i druge hemijske kontaminante koji čine meso neupotrebljivim.

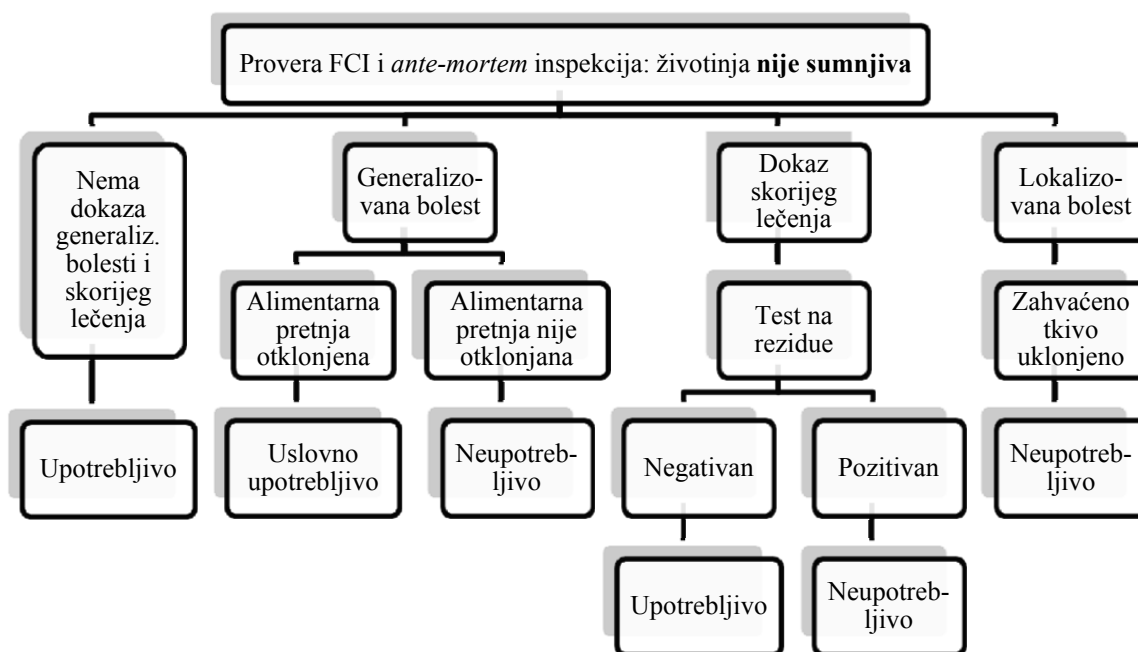
Ante-mortem inspekcijom životinja se posebno mora utvrditi da li su poštovani propisani uslova gajenja i da li postoji stanje koje bi moglo imati negativne posledice na zdravlje ljudi ili životinja, gde se posebna pažnja mora obratiti na otkrivanje zoonotskih oboljenja i bolesti navedenih u nekadašnjoj listi A, a gde je moguće i u listi B Svetske organizacije za zdravlje životinja (Office International des Epizooties, OIE).

5.1.3. Post-mortem inspekcija

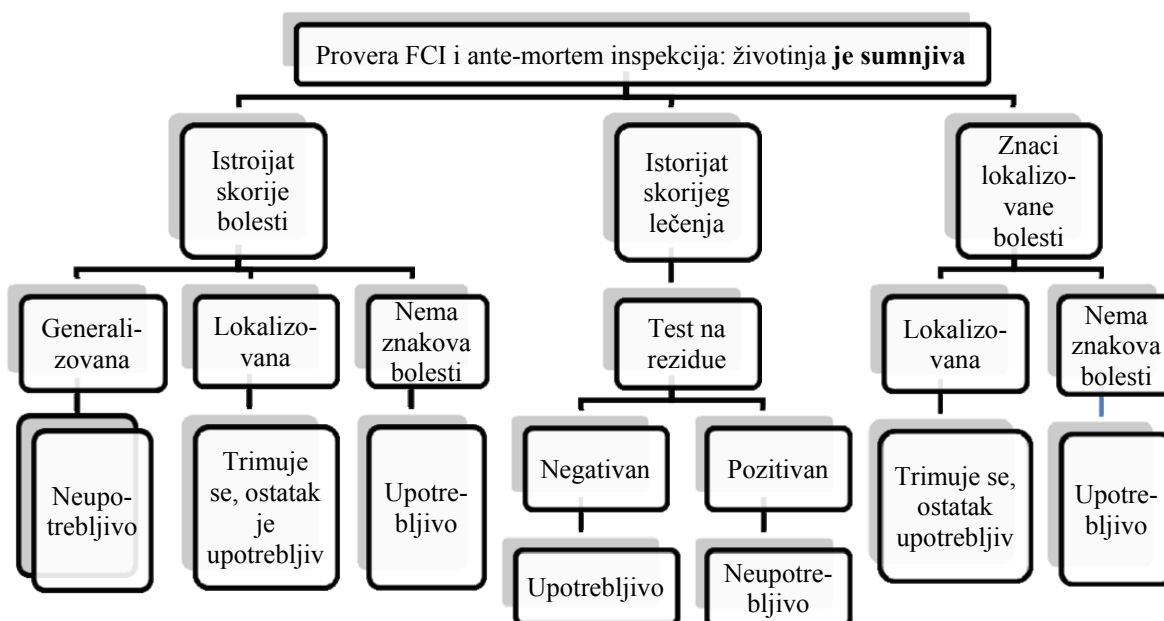
Prema Regulativi EC 854/2004 trupove i iznutrice treba odmah po klanju podvrgnuti *post-mortem* inspekciji. Treba pregledati sve spoljašnje površine, uz minimalno manipulisanje trupovima i organima. Posebnu pažnju treba obratiti na otkrivanje zoonotskih oboljenja i oboljenja na nekadašnjoj listi A OIE-a, a gde je moguće i na listi B OIE-a. Brzina linije klanja i broj prisutnih lica koja rade na inspekciji treba da bude adekvatni kako bi inspekcija bila urađena na kvalitetan način.

Ponekad treba obaviti i dodatna ispitivanja palpacijom i incizijom delova trupa i iznutrica, kao i laboratorijska ispitivanja ako je neophodno:

- (a) u cilju dobijanja konačne dijagnoze; ili
- (b) u cilju otkrivanja postojanja: oboljenja životinje, rezidua ili zagađivača u većoj količini u odnosu na propisane nivoe, nepoštovanja mikrobioloških kriterijuma ili drugih faktora zbog čega može biti potrebno deklarirati da meso nije odgovarajuće za ljudsku ishranu ili je samo uslovno upotrebljivo (naročito u slučajevima kada je izvršeno prinudno klanje životinja).



Grafikon 15 - Stablo odlučivanja kod postmortalnog pregleda u slučaju da životinja nije sumnjiva na osnovu provere informacija iz lanca hrane i premortalne inspekcije



Grafikon 16 - Stablo odlučivanja kod postmortalnog pregleda u slučaju da je životinja sumnjiva na osnovu provere informacija iz lanca hrane i premortalne inspekcije

Tabela 3 - Procedure *post-mortem* inspekcije goveda i svinja

Organ/ sistem	Deo organa/sistema	Goveda				Svinje	
		Mlada od 6 nedelja		Starija od 6 nedelja		Oba- vezno	Opci- ono
		Oba- vezno	Opci- ono	Oba- vezno	Opci- ono		
Obraden trup	Spoljašnje površine	V		V		V	
	Glava, usta, grlo itd.	V		V		V	
Glava	Retrofaringealni limfni čvorovi	I		I			
	Submaksilarni limfni čvorovi			I		I	
	Parotidni limfni čvorovi			I			
	Maseteri			I			
	Jezik	P		V + P		V	
	Parenhim	V + P + I*		V + P + I*		V + P + I*	
Pluća	Traheja	V + I*		V + I*		V + I*	
	Veći bronhi	I*		I*		I*	
	Medijastinalni limfni čvorovi	I		I		P	
	Bronhilajni limfni čvorovi	I		I		P	
	Jednjak	V		V		V	
Srce	Srce	V + I		V + I		V + I	
	Perikardijum	V		V		V	
Dijafragma	V		V		V		
Jetra	Parenhim	V + P	I	V + P + I		V + P	
	Hepatični (portalni) limfni čvorovi	V + P	I	V + P		V + P	
	Pankreatični limfni čvorovi	V		V + P		V	
Gastrointe- stinalni trakt	Želudac i creva	V		V		V	
	Mezenterijum	V		V		V	
	Gastrični limfni čvorovi	V + P	I	V + P	I	V + P	I
	Mezenterični limfni čvorovi	V + P	I	V + P	I	V + P	I
Slezina	V	P	V	P	V	P	
Bubrezi	Parenhim	V	I	V	I	V	I
	Renalni limfni čvorovi		I		I		I
Genitalni organ i vime	Materica			V		V	
	Vime			V	(P+I)*	V	
	Supramamarni limfni čvorovi			V	(P+I)*	(V+I)**	
PLEURA	V		V		V		
PERITONEUM	V		V		V		
Umbilikalna regija	V + P	I			(V + P)**	I**	
Zglobovi	V + P	I			(V + P)**	I**	

Izvor: Regulation EC 854/2004; V-vizuelna inspekcija; P-palpacija; I-incizija

*ne zahteva se ako organi nisu namenjeni za ljudsku ishranu

**samo kod krmača

5.1.3.1. *Post-mortem* inspekcija goveda

Kada je reč o inspekciji trupa goveda na kraju linije klanja i obrade, neophodno je vizuelno pregledati sve površine iz svih uglova u cilju otkrivanja prisutnih abnormalnosti i određivanja pola životinja. Potrebno je pregledati sve zglobove na znake artritisa i mišiće na prisustvo modrica. Treba proveriti da li je boja masnog (može da ukazuje na poremećaje jetre) i mišićnog tkiva normalna. Takođe, treba proveriti i da li su krvni sudovi adekvatno drenirani. Abdominalna duplja treba da se proveri na prisustvo adherencija koje ukazuju na peritonitis a grudna duplja na znake pleuritisa ili tuberkuloznih lezija. Ukoliko navedene provere ukažu da je trup „normalan”, dalje manipulisanje trupom (palpacije, incizije) u cilju inspekcije nije potrebno.

Bubrezi ostaju uz trup za vreme inspekcije koja se sprovodi vizuelno i palpacijom. Jedino ako se posumnja na nefritis, renalni limfni čvorovi se zasecaju u cilju definitivne dijagnoze.

Glava treba da se pregleda iz svih uglova. Treba proveriti da li mandibula ima nepravilan oblik, što ukazuje na aktinobacilozu, i da li postoje znaci ikterusa na beonjačama. Jezik se pregleda vizuelno i palpacijama na znake slinavke i šapa, aktinobaciloze i cisticerkoze. Sekutići se pregledaju zbog određivanja starosti životinje (da se potvrde FCI) zbog obaveznog testiranja na BSE životinja starijih od 24 meseca. Važno je pregledati retrofaringealne, submandibularne i parotidne limfne čvorove jer se na osnovu njih može dijagnostikovati tuberkuloza. Unutrašnji žvakaći mišići se zasecaju sa jednim a spoljašnji sa dva paralelna reza zbog otkrivanja *T. saginata* cisticerkusa.

Pluća se pregledaju vizuelno na znake pneumonije, cisti (npr. hidatidne), apscesa, tumora itd., a palpiraju se da bi se proverilo da li postoje promene u dubini tkiva. Bronhijalni i medijastinalni limfni čvorovi se zasecaju zbog detekcije tuberkuloze, a traheja i veći bronhi zbog stranog sadržaja (hrane, parazita, krvi itd.) ako se pluća koriste u ishrani ljudi.

Srce se ispituje vizuelno u cilju detekcije perikarditisa, a perikardijalna kesa se otvara u cilju otkrivanja abnormalne količine perikardijalne tečnosti. Sve komore i pretkomore se otvaraju u cilju detekcije endokarditisa, a septum se otvara zbog cisticerkoznih cisti. Ako se cisticerkus otkrije u žvakaćim mišićima ili u srcu, i dijafragma mora da se ispita.

Jetra je naročito važna kao generalni indikator zdravlja životinje. Vizuelno se ispituje u cilju otkrivanja degeneracija, distrofija, cisti (npr. hidatidne), apscesa, tumora i tuberkuloznih lezija. Palpira se zbog otkrivanja navedenih promena u dubljem tkivu, a

hepatični limfni čvor se palpira i zaseca (ako vizuelna inspekcija i/ili palpacija ukažu na sumnjivo stanje). Žučni kanali i kaudalni režanj jetre se otvaraju zbog otkrivanja metilja.

Slezina je nekad odvojena a nekad pričvršćena za burag i ispituje se vizuelno i palpacijom u cilju provere promena boje, veličine, zaoštrenosti ivica i konzistencije. Uvećanje jetre i/ili tamna boja često mogu da ukazuju na infektivne bolesti (npr. antraks) i septikemiju.

U sklopu inspekcije alimentarnog trakta, burag i creva se pregledaju vizuelno na znake enteritisa. Salmoneloza i paratuberkuloza izazivaju crvenilo creva pa mogu da se detektuju vizuelno, a karakterističan znak paratuberkuloze je i zadebljanje zida creva. Gastrični i mezenterični limfni čvorovi se palpiraju, a ako se posumnja na neke abnormalnosti, moraju se i zaseći. Jednjak se palpira zbog otkrivanja parazitskih cisti.

Genitalni organi se vizuelno ispituju i palpiraju, a zasecaju u slučaju potrebe. Nakon što se odvoji od trupa, vime se ispituje vizuelno i palpacijom. Mastitis je često izazvan zoonotskim agensima; stoga, mora se voditi računa da mleko ne curi po jestivim delovima trupa i organa. Takođe, tuberkulozne lezije mogu da se nađu u vimenu.

Životinje koje su mlađe od 6 nedelja se ispituju kao i starije sa izuzetkom zasecanja žvakaćih mišića u cilju detekcije cisticerkoznih bobica i zasecanja jetre zbog detekcije metilja jer se smatra da su životinje nedovoljno stare da bi se ovi paraziti razvili. Pažnju treba posvetiti pregledu umbilikalne regije i zglobova jer promene mogu ukazivati na salmonelozu.

5.1.3.2. *Post-mortem* inspekcija svinja

Svinje se ispituju na način opisan za goveda starija od 6 nedelja sa razlikom što se koža mora pažljivo vizuelno pregledati na prisustvo znakova bolesti (npr. crveni vetar, svinjska kuga) i ugriza na repovima. Takođe, potrebno je pažljivo zasecati i ispitivati submaksilarne limfne čvorove zbog mogućih tuberkuloznih lezija. Žučni kanali se u normalnim okolnostima ne zasecaju, ali se uzimaju uzorci korena dijafragme zbog ispitivanja na trihinelozu.

5.2. Mikrobiološki kriterijumi za meso

U Regulativi EU 852/2004 o higijeni namirnica se naglašava da je visok nivo zaštite javnog zdravlja jedan od osnovnih ciljeva EU zakona o hrani iz 2002. godine (Regulativa EC 178/2002), da su mikrobiološki hazardi u namirnicama glavni izvor alimentarnih bolesti ljudi i da, stoga, namirnice ne smeju da sadrže mikroorganizme ili njihove toksine ili metabolite u količinama koji predstavljaju neprihvatljiv rizik za zdravlje ljudi. Regulativa 178/2002 definiše opšte zahteve za bezbednost hrane, prema kojima hrana ne sme da se plasira na tržište ukoliko nije bezbedna, odnosno subjekti koji se bave hranom su obavezni da povuku nebezbednu hranu iz prodaje. U cilju zaštite javnog zdravlja i sprečavanja različitih interpretacija ovog propisa, bilo je neophodno da se ustanove harmonizovani bezbedonosni kriterijumi za prihvatljivost hrane - naročito u pogledu prisustva patogenih mikroorganizama (EFSA, 2007e).

Prema definiciji Komisije *Codex Alimentarius*-a, mikrobiološki kriterijum (MC) za hranu definiše prihvatljivost proizvoda ili serije prehrambenih proizvoda na osnovu odsustva, prisustva ili broja mikroorganizama uključujući parazite i/ili količinu njihovih toksina/metabolita u jedinici mase, zapremine, površine ili serije (CAC, 1997a). U EU legislativi, poštovanje mikrobioloških kriterijuma za hranu je obavezno za sve subjekte koji se bave hranom prema Regulativi 854/2004, a sami kriterijumi su bliže definisani Regulativom 2073/2005 i Regulativom 1441/2007. Ovi kriterijumi predstavljaju vodič za prihvatljivost namirnica i procesa njihove proizvodnje, rukovanja i distribucije i treba da budu sastavni deo primene procedura zasnovanih na HACCP-u i drugih higijenskih kontrolnih mera, kao i deo njihove validacije i verifikacije.

Za razliku od zadataka bezbednosti hrane (FSOs) i zadataka performanse (POs) koji predstavljaju samo limite, mikrobiološki kriterijum se sastoji od specifičnijih elemenata kao što su analitički metod, plan uzorkovanja, mikrobiološki limit(i), specifična tačka u lancu hrane gde se limiti primenjuju, broj analitičkih jedinica koji bi trebalo da potvrdi limite i akcije koje treba preduzeti kada kriterijum nije zadovoljen.

5.2.1. Kriterijumi bezbednosti hrane (mesa)

Prema Regulativi EU 2073/2005, kriterijumi bezbednosti hrane (Food Safety Criteria, FSC) određuju prihvatljivost/bezbednost proizvoda ili grupe namirnica stavljenih u promet.

Tabela 4 - Kriterijumi bezbednosti mesa

Kategorija hrane (mesa)	Mikroorga nizmi	Plan uzorkovanja		Limiti	Analitički referentni metod	Tačka u lancu hrane na koju se kriterijum odnosi
		n	c			
Mleveno meso i poluproizvodi od mesa, namenjeni da se jedu sirovi	<i>Salmonella</i>	5	0	odsustvo u 25 g	EN/ISO 6579	proizvod plasiran na tržište za vreme roka upotrebe
Mleveno meso i poluproizvodi od mesa napravljeni od živinskog mesa, namenjeni da se jedu posle kuvanja	<i>Salmonella</i>	5	0	odsustvo u 25 g	EN/ISO 6579	proizvod plasiran na tržište za vreme roka upotrebe
Mleveno meso i poluproizvodi od mesa napravljeni drugih vrsta mesa sem živinskog, namenjeni da se jedu posle kuvanja	<i>Salmonella</i>	5	0	odsustvo u 10 g	EN/ISO 6579	proizvod plasiran na tržište za vreme roka upotrebe
Mehanički separisano meso	<i>Salmonella</i>	5	0	odsustvo u 10 g	EN/ISO 6579	proizvod plasiran na tržište za vreme roka upotrebe
Proizvodi od mesa namenjeni da se jedu sirovi (isključujući proizvode kod koji proizvodni process ili sastav proizvoda eliminišu rizik od <i>Salmonella</i>)	<i>Salmonella</i>	5	0	odsustvo u 25 g	EN/ISO 6579	proizvod plasiran na tržište za vreme roka upotrebe
Proizvodi od živinskog mesa namenjeni da se jedu posle kuvanja	<i>Salmonella</i>	5	0	odsustvo u 25 g	EN/ISO 6579	proizvod plasiran na tržište za vreme roka upotrebe

Izvor: (Regulation EC 2073/2005; Regulation EC 1441/2007); n - broj jedinica koji čini uzorak;

c - dozvoljen broj uzoraka koji ne ispunjava limit

Interpretacija rezultata za *Salmonella*: rezultat je zadovoljavajući samo ako je u svim uzorcima dokazano odsustvo ove bakterije.

5.2.2. Kriterijumi procesne higijene

Tabela 5 - Kriterijumi procesne higijene za meso i proizvode od mesa

Kategorija hrane (mesa)	Mikroorganizmi	Plan uzorkovanj		Limiti		Anali-tički referentni metod	Tačka u lancu hrane na koju se kriterijum odnosi	Mera u slučaju nezadovoljavajućih rezultata
		n	c	m	M			
Trupovi goveda, ovaca, koza i konja	Broj aerobnih bakterija			3,5 log CFU/c m ² dslv	5,0 log CFU/c m ² dslv	ISO 4833	Trup nakon obrade ali pre hlađenja	Poboljšanje higijene klanja i preispitivanje procesnih kontrola
	Broj <i>Enterobacteriaceae</i>			1,5 log CFU/c m ² dslv	2,5 log CFU/c m ² dslv	ISO 21528-2		
Trupovi svinja	Broj aerobnih bakterija			4,0 log CFU/c m ² dslv	5,0 log CFU/c m ² dslv	ISO 4833	Trup nakon obrade ali pre hlađenja	Poboljšanje higijene klanja i preispitivanje procesnih kontrola
	Broj <i>Enterobacteriaceae</i>			2,0 log CFU/c m ² dslv	3,0 log CFU/c m ² dslv	ISO 21528-2		
Trupovi goveda, ovaca, koza i konja*	<i>Salmonella</i>	50**	2***	Odsustvo u ispitivanoj regiji na trupu		EN/ISO 6579	Trup nakon obrade ali pre hlađenja	Poboljšanje higijene klanja i preispitivanje procesnih kontrola i porekla životinja
Trupovi svinja*	<i>Salmonella</i>	50**	5***	Odsustvo u ispitivanoj regiji na trupu		EN/ISO 6579	Trup nakon obrade ali pre hlađenja	Poboljšanje higijene klanja i preispitivanje procesnih kontrola, porekla životinja i biosigurnosnih mera na farmama porekla
Trupovi živine (brojleri i ćurke)*	<i>Salmonella</i>	50**	7***	Odsustvo u 25 g zbirnog uzorka kože vrata		EN/ISO 6579	Trup nakon hlađenja	Poboljšanje higijene klanja i preispitivanje procesnih kontrola, porekla životinja i biosigurnosnih mera na farmama porekla
Mleveno meso	Broj aerobnih bakterija [#]	5	2	5 × 10 ⁵ CFU/g	5 × 10 ⁶ CFU/g	ISO 4833	Kraj proizvodnog procesa	Poboljšanja u higijeni proizvodnje i poboljšanja u selekciji i/ili poreklu sirovina
	Broj <i>E. coli</i> ^{##}	5	2	50 CFU/g	500 CFU/g	ISO 16649-1 ili 2		
Mehanički separisano meso	Broj aerobnih bakterija	5	2	5 × 10 ⁵ CFU/g	5 × 10 ⁶ CFU/g	ISO 4833	Kraj proizvodnog procesa	Poboljšanja u higijeni proizvodnje i poboljšanja u selekciji i/ili poreklu sirovina
	Broj <i>E. coli</i> ^{##}	5	2	50 CFU/g	500 CFU/g	ISO 16649-1 ili 2		
Meso za pripremanja	Broj <i>E. coli</i> ^{##}	5	2	500 CFU/g ili cm ²	5000 CFU/g ili cm ²	ISO 16649-1 ili 2	Kraj proizvodnog procesa	Poboljšanja u higijeni proizvodnje i poboljšanja u selekciji i/ili poreklu sirovina

Izvor: Regulation EC 2073/2005; Regulation EC 1441/2007

n - broj jedinica koji čini uzorak

c - broj jedinica uzorka čije su vrednosti između m i M

*m = M

Limiti (m i M) se odnose na uzorke uzete destruktivnim metodom. Dnevna srednja logaritamska vrednost (dslv) se računa tako što se prvo rezultat svakog individualnog testa prevede u logaritamsku vrednost pa onda se izračuna sredina logaritamskih vrednosti.

**50 uzoraka se dobija od 10 uzastopnih sesija uzorkovanja u skladu sa pravilima u učestalošću uzorkovana navedenih u Regulativi 2073/2005

***broj uzoraka gde je detektovana *Salmonella*.

#Ovaj kriterijum se ne odnosi na mleveno meso koje je napravljeno na nivou prodaje kada je rok upotrebe ovog proizvoda manji od 24h

##E. coli kao indikator fekalne kontaminacije

Interpretacija rezultata

- broj Enterobacteriaceae i ukupan broj aerobnih bakterija na trupovima: zadovoljavajuće ako je $dslv \leq m$; marginalno ako je $dslv$ između m i M; nezadovoljavajuće ako je $dslv > M$
- *Salmonella* na trupovima: zadovoljavajuće ako je prisustvo detektovano u maksimalno c od n uzoraka; nezadovoljavajuće ako je prisustvo detektovano u više od c od n uzoraka (nakon svake sesije uzorkovanja, rezultat od poslednjih 10 sesija se uzima u cilju određivanja n broja uzoraka).
- *E. coli* i ukupan broj aerobnih bakterija u mlevenom mesu, poluproizvodima od mesa i mehanički separisanom mesu: zadovoljavajuće ako je vrednosti $\leq m$; marginalno ako je maksimalno c od n vrednosti između m i M; nezadovoljavajuće ako je jedna ili više vrednosti $> M$ ili više od c od n vrednosti između m i M.

Prema Regulativi 2073/2005, kriterijumi procesne higijene (Proces Hygiene Criteria, PHC) ukazuju na prihvatljivost načina kojim se obavlja postupak proizvodnje odnosno pravilno funkcionisanje tog procesa. Ovi uslovi nisu primenljivi za proizvode iznete na tržište, a određuju vrednosti kontaminacije iznad kojih je neophodno sprovesti korektivne mere radi očuvanja higijene procesa u skladu sa zakonom o hrani.

Glavna svrha postavljanja ovih kriterijuma u navedenoj Regulativi EU je unapređenje bezbednosti potrošača i harmonizacija kriterijuma među članicama EU kako bi se olakšala međunarodna trgovina. Kada je u pitanju bezbednost mesa, cilj ovoga je i smanjivanje broja slučajeva ljudi odolelih od salmoneloze; kada su u pitanju druge vrste hrane i smanjivanje bolesti izazvanih sa *Listeria monocytogenes* (sva RTE hrana), stafilokoknim enterotoksinima (sirevi) itd.

Mikrobiološki kriterijumi su korisni za validaciju i verifikaciju procesa i procedura zasnovanih na HACCP-u, kao i drugih higijenskih kontrolnih mera. Pored toga mikrobiološki kriterijumi se koriste za procenu prihvatljivosti proizvedene serije hrane. U EU legislativi se koriste i kao način komunikacije o nivou kontrole hazarda koji treba da se postigne. Ispunjavanje mikrobioloških kriterijuma nudi neku vrstu garancije da patogeni nisu prisutni u neprihvatljivo visokim koncentracijama, ali svakako ne garantuje njihovo odsustvo.

5.3. Dobri aspekti i slabosti rešenja u „Higijenskom paketu 2004“

5.3.1. Inspekcija mesa

5.3.1.1 Informacije iz lanca hrane

FCI predstavljaju važan faktor koncepta „od farme do trpeze“ sa ciljem unapređenja bezbednosti hrane za potrošača, zdravlja i dobrobiti životinja. Suština odgovarajućih i detaljnih informacije o životinjama za klanje je da, zajedno sa nalazima prilikom *ante-mortem* inspekcije, omogućiti kategorizaciju životinja na „sumnjive“ koje predstavljaju viši rizik po javno zdravlje i one koje „nisu sumnjive“, odnosno koje predstavljaju niži rizik po javno zdravlje. Na osnovu ovih informacija, rizičnijim i manje rizičnim grupama životinja može da se rukuje odvojeno za vreme transporta, boravka u stočnom depou i klanja i obrade trupova, kako bi se sprečila unakrsna kontaminacija manje rizičnih. Životinje nižeg rizika se uglavnom kolju pre životinja višeg rizika što se naziva logističko klanje (Swanenburg *et al.*, 2001). Korisnost ove podele na rizične grupe životinje je i da kasnije, za vreme *post-mortem* inspekcije, visoko rizične životinje budu predmet detaljnijeg ispitivanja, uključujući i laboratorijske testove ako su potrebni, dok u slučaju manje rizičnih životinja može da se obavi jednostavnija inspekcija. FCI ne treba da „putuju“ samo od farme do klanice, već i nazad. Podaci sa *post-mortem* inspekcije, kao deo FCI, će obezbediti vrlo vredne informacije o zdravlju životinja. Dalje, FCI može da pomogne modernizaciji inspekcije mesa u kojoj su hazardi po javno zdravlje kontrolisani, jer je fizičko rukovanje mesom (palpacije, incizije) redukovano, pa je smanjena i unakrsna kontaminacija mikroorganizmima.

Međutim, danas, informacije iz lanca hrane su samo do izvesne mere koncipirane u vezi zaštite javnog zdravlja. U praksi, FCI nedostaju adekvatni indikatori koji bi omogućili objektivniju rizičnu kategorizaciju životinja u pogledu javnog zdravlja.

5.3.1.2 *Ante-mortem* inspekcija

Ante-mortem inspekcija je vrlo značajna u detekciji bolesti koje se ne manifestuju patomorfološkim lezijama vidljivim golim okom (npr. listerioza, trovanja teškim metalima) i u identifikaciji životinja za koje se sumnja da sadrže rezidue veterinarskih lekova ili zabranjene supstance. Neki izveštaji i iskustva inspektora ukazuju da neki od zabranjenih promotera rasta proizvode prepoznatljive promene u sekundarnim seksualnim

karakteristikama, promene u ponašanju itd. (EFSA, 2004). S druge strane, premortalna inspekcija omogućava i ocenu dobrobiti životinja. Takođe, važna je i u identifikovanju prljavih životinja čije klanje može da dovede do značajnog rizika za kontaminaciju linije klanja, opreme i ruku radnika, a kao rezultat navedenog, može da nastane unakrsna kontaminacija mesa (Gracey *et al.*, 1999). Odgovarajuća inspekcija može da otkrije ove životinje i može da se spreči klanje istih pod normalnim uslovima, odnosno omogućava se da se kolju odvojeno da se izbegne unakrsna kontaminacija; stoga je ova inspekcija ključna za bezbednost hrane.

Postoji nekoliko faktora koji ograničavaju efektivnost *ante-mortem* inspekcije koja se danas zahteva. Problem predstavlja nespecifičnost i/ili promenljivost kliničkih znakova bolesti životinja (Berends *et al.*, 1993; FAO, 1994) ali je najvažnija činjenica da i ako životinje u/na sebi nose zoonotske hazarde, većina najznačajnijih hazarda za zdravlje ljudi ne izaziva kliničke znake bolesti u životinja. Takođe, radno okruženje/uslovi u klanici i veliki broj relativno zdravih životinja koje treba ispitati često odvrću pažnju inspektora i onemogućavaju detaljnu inspekciju životinja, odnosno često se dešava da se životinje i koje pokazuju znake bolesti ne otkriju (Harbers *et al.*, 1991; Berends *et al.*, 1993). Dalje, relativno je kratko vreme za pregled životinja u modernim klanicama sa brzim linijama klanja. Studije o *ante-mortem* inspekciji svinja (Harbers *et al.*, 1991; Harbers *et al.*, 1992) su ukazale da je stepen detekcije abnormalnosti niži kada se inspekcija sprovodi u klanici nego kada se sprovodi na farmi sa koje životinje potiču.

5.3.1.3 *Post-mortem* inspekcija

Kao i u slučaju *ante-mortem* inspekcije, prednosti su uglavnom vezane za aspekte zdravlja i dobrobiti životinja. Inspekcija mesa u klanici je jedna od najpodesnijih i najvažnijih tačaka u lancu hrane po pitanju kontrole bolesti životinja (Gracey *et al.*, 1999; Garcia *et al.*, 2003). Klasična postmortalna inspekcija mesa je sposobna da detektuje makroskopske lezije izazvane sa npr. mikobakterijama, cisticerkusima itd., kao i trihinelozu svinja posebnim laboratorijskim ispitivanjem na ovoj tački, ali ovi aspekti su relevantni samo u regionima gde su navedeni hazardi prisutni.

Priroda najznačajnijih problema za bezbednost mesa se promenila od kada je tradicionalna inspekcija mesa razvijena i ovaj sistem inspekcije je predmet sve većih kritika danas jer se smatra da više nije adekvatan u zaštiti javnog zdravlja (Harbers *et al.*, 1992;

Berends *et al.*, 1993; Berends *et al.*, 1996; Edwards *et al.*, 1997; Mousing *et al.*, 1997; SCVPH, 2000a; Uzal *et al.*, 2002; SCVPH, 2003; EFSA, 2004). Neke od bolesti, zbog kojih su ove procedure i razvijene su danas iskorenjene ili se vrlo retko pojavljuju, naročito kod relativno mladih životinja koje se danas kolju (Berends *et al.*, 1993; Edwards *et al.*, 1997; Dwinger *et al.*, 2009).

Tradicionalna inspekcija ima nisku efikasnost u detekciji hazarda za javno zdravlje u klinički zdravih životinja. Kada premortalna inspekcija kategoriše životinje kao zdrave, u uslovima razvijenih zemalja, postmortalna inspekcija može da otkrije samo petinu makroskopskih lezija koje su prisutne u manje od 1% životinja (Snijders *et van Knapen*, 2002). Njena niska osetljivost i objektivnost je ukazana od strane brojnih autora (Dorny *et al.*, 2000; Geysen *et al.*, 2007; Bonde *et al.*, 2010). Većina stanja koja se detektuju ovim procedurama su estetske prirode i više od značaja za zdravlje životinja, stoga ne predstavljaju ozbiljnu pretnju za zdravlje ljudi (Berends *et al.*, 1993). Takođe, duže vremena postoji pitanje isplativosti (*cost-effectiveness*) aktuelne inspekcije mesa (Hathaway *et al.*, 1987; Hathaway *et McKenzie*, 1989) i predlog da bi inspekcija trebala biti prilagođena prevalenciji određenih bolesti u određenom regionu (Hathaway, 1993).

Najznačajnija mana tradicionalne, organoleptičke inspekcije je njena nemogućnost da detektuje najznačajnije hazarde za javno zdravlje danas, koji se prenose putem mesa, poput *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* O157 itd. koje su najčešće i prisutne u klinički zdravih životinja (Berends *et al.*, 1993; Edwards *et al.*, 1997; Sorensen *et Petersen*, 1999). Dalje, postoji i velika mogućnost prenošenja ovih patogena sa jednog organa ili trupa na drugi, manuelnim manipulacijama, tj. palpacijama i incizijama koje se podrazumevaju u aktuelnoj inspekciji mesa (Sorensen *et Petersen*, 1999; SCVPH, 2000a; SCVPH, 2003).

U novije vreme, u naučnim krugovima postoji konsenzus da inspekcija mesa treba da bude modernizovana i zasnovana na oceni rizika (Hathaway *et McKenzie*, 1991; Berends *et al.*, 1996; Edwards *et al.*, 1997; SCVPH, 2000a; SCVPH, 2003; EFSA, 2004; Alban *et al.*, 2008; Alban *et al.*, 2009). Iz razloga prevencije unakrsne kontaminacije, ali i troškova inspekcije, predložene su procedure koje se uglavnom zasnivaju na samo vizuelnom ispitivanju jer se smatra da je i samo detaljna vizuelna inspekcija („*hands-off*“) dovoljna za osiguranje bezbednosti hrane u uslovima razvijenih zemalja (Mousing *et al.*, 1997; Mousing *et al.*, 1999; Hamilton *et al.*, 2002; Hill *et al.*, 2011). U Tabelama 6 do 11 se vidi da je većina makroskopskih promena u zaklanih goveda i svinja detektibilna i samo adspekcijom. Naravno, u tom slučaju je neophodno da se preduzmu i efektivne preventivne mere tokom

odgoja životinja i obezbede adekvatne informacije o životinjama pre klanja, što je i navedeno u propisima iz „Higijenskog paketa 2004“.

U Regulativi 854/2004 je navedeno da inspekcija mesa treba da bude „zasnovana na riziku“, što u principu znači redovnu reviziju ovih procedura (Leps *et* Fries, 2009). U sistemu aktuelne inspekcije mesa, nije napravljena jasna razlika između donošenja odluke o „nepodesno/neupotrebljivo za konzumaciju od strane ljudi” u poređenju sa „štetno u slučaju konzumacije od strane ljudi”.

Tabela 6 - Mogući nalazi prilikom *post-mortem* inspekcije trupova goveda

Deo čija se inspekcija vrši	Stanja/bolesti koja je moguće detektovati	Detekcija moguća metodom:		
		adspekcije	palpacije	incizije
Sistemske promene	(a) emacijacija, (b) edem, (c) groznica, (d) septikemija, (e) kontaminacija, (f) mirisi, (g) promene boje, (h) injekciona mesta, (i) žutica, (j) hemoragije, (k) apscesi, (l) malformacije	a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l	h, l	b, h, l
Koža i površina trupa	(a) rane po koži	a		
Krv	(a) mogućnost koagulacije, (b) promena boje	a, b		
Mišići	(a) apscesi, (b) edemi/ zapaljenja, (c) distrofija mišića (d) cisticerkoza	a, b, c, d	a, b	a, c, d
Kosti	(a) frakture, (b) promene boje	a, b		b
Vezivno i masno tkivo	(a) edemi/zapaljenja, (b) hipodermoza (larve u potkožnom vezivnom tkivu)	a, b	a, b	a, b
Zglobovi	(a) artritis (lokalni, hronični, generalizovani, septični), (b) akutni septični artritis, (c) rikecioza	a, b, c	a, b	
Pupčana regija	(a) apscesi	a	a	a
Genitalni organi	(a) bruceloza	a		a

Izvor: EFSA, 2004

Tabela 7 - Mogući nalazi prilikom *post-mortem* inspekcije glave i vrata goveda

Deo čija se inspekcija vrši	Stanja/bolesti koja je moguće detektovati	Detekcija moguća metodom:		
		adspekcije	palpacije	incizije
Glava i vrat	(a) gljivična oboljenja ("ringworm"), (b) papilomi, (c) sekundarne infekcije na ranama na koži, (d) bovina virusna dijareja, (e) maligna kataralna groznica, (f) zapaljenja, (g) apscesi	a, b, c, d, e, f, g		
Submaksilarni, retrofaringealni i parotidni limfni čvorovi	(a) tuberkuloza, (b) apscesi, (c) limfadenitis, (d) generalizovana leukoza/ limfom	c, d		a, b
Spoljašnji i unutrašnji maseteri	(a) paraziti (cisticerkoza)	a		a
Usta i grlo	(a) bovina virusna dijareja, (b) maligna kataralna groznica, (c) slinavka i šap	a, b, c		
Jezik	(a) aktinobaciloza, (b) nekrobaciloza, (c) paraziti (cisticerkoza)	a, b	a, b	c

Izvor: EFSA, 2004

Tabela 8 - Mogući nalazi prilikom *post-mortem* inspekcije toraksa goveda

Deo čija se inspekcija vrši	Stanja/bolesti koja je moguće detektovati	Detekcija moguća metodom:		
		adspekcije	palpacije	incizije
Pluća	(a) pneumonija, pleuropneumonija (b) apscesi, (c) infiltracija, melanoza, (d) parazitska eozinofiloza (e) komplikacije od nekrobaciloze jezika, (f) emfizem, (g) krvarenja, regurgitacija, (h) tuberkuloza, (i) paraziti (ehinokokusne ciste)	a, b, c, d, f, h, i	b, f, h, i	b, d, e, g, h, i
Jednjak	(a) cisticerkoza, (b) bovina virusna dijareja, (c) maligna kataralna groznica, (d) inflamacija, (e) sarkocistoza	a, b, c, d, e		a
Bronhijalni i medijastinalni limfni čvorovi	(a) reakcija u slučaju lezija na plućima, (b) limfom, (c) tuberkuloza	a, b		c
Traheja i glavne grane bronhija	(a) mukozni sadržaj, edem i inflamacija povezani sa plućima (b) aspirirana krv prilikom faze iskrvarenja, regurgitovan sadržaj iz želuca	a		a, b
Perikardijum i srce	(a) inflamatorne lezije u perikardijumu, (b) inflamatorne lezije u miokardijumu, endokardijumu, (c) cisticerkoza, (d) sarkocistoza	a, c, d		b, c
Pleura	(a) pleuritis	a		
Dijafragma	(a) cisticerkoza	a		a

Izvor: EFSA, 2004

Tabela 9 - Mogući nalazi prilikom *post-mortem* inspekcije abdomena goveda

Deo čija se inspekcija vrši	Stanja/bolesti koja je moguće detektovati	Detekcija moguća metodom:		
		adspekcije	palpacije	incizije
Jetra	(a) apscesi, (b) ciroza, (c) paraziti (ehinokokusne ciste, fascioloza), (d) diskoloracije (žutica, kongestija, degeneracija), (e) promene u konzistenciji parenhima, (f) omfaloflebitis, (g) flebitis portalne vene, (h) infekcije i toksiko-infekcije, (i) milijarna nekroza, (j) limfom, (k) tuberkuloza	a, b, c, d, h, i, j, k	a, b, e	a, b, c, f, g, i, j, k
Hepatični i pankreatični limfni čvorovi	(a) reakcija u slučaju lezija na jetri, (b) limfom, (c) tuberkuloza	a, b		c
Gastrointestinalni trakt i mezenterijum	(a) inflamacije/enteritis, kongestija, peritonitis, (b) perforirani čirevi na abomazusu, (c) toksiko-infekcije, širenje patogena krvotokom, (d) bezoari, (f) tuberkuloza	a, b, c, f	d	b, f
Gastrični i mezenterični limfni čvorovi	(a) hipertrofija, zapaljenja, kongestija, (b) limfom, (c) tuberkuloza	a, b	a, b	c
Slezina	(a) splenomegalija, (b) leukoza/limfom, (c) reakcija na infekciju/septikemiju, (d) apscesi	a, b, c, d	a, d	a, b, c, d
Urinarni sistem	(a) hidronefroza, (b) nefritis, (c) pijelonefritis, (d) cistitis, (e) urolitijaza, (f) kongenitalne ciste, (h) petehije	a, d, f, g, h	a, g	a,b,c,d, h,
Renalni limfni čvorovi	(a) inflamacija	a		
Peritoneum	(a) peritonitis, (b) septikemija, (c) tuberkuloza	a, b, c		

Izvor: EFSA, 2004

Tabela 10 - Mogući nalazi prilikom *post-mortem* inspekcije organa svinja

Organ	Promene	Detekcija moguća metodom:		
		adspekcije	palpacije	incizije
Srce	perikarditis	akutni	+	
		hronični	+	
Pluća	endokarditis			+
		pneumonija	akutna	+
	pleuritis	hronična	+	
		akutni	+	
Jetra	parazitske lezije (npr. <i>Metastrongylus</i>)			+
	diskoloracija (moguće trovanje mikotoksinima)		+	
	hepatitis	akutni		
Materica	mlečne pege	hronični	+	
		metritis		+
Jajnici	abnormalnosti		+	
Mamarni kompleks	uvećanje		+	
Testisi	induracije			+
		kriptorhizam	+	
Creva	kazeozni limfadenitis			+
Bubrezi	nefritis		+	
		diskoloracija (moguće trovanje mikotoksinima)	+	
		infarkti	+	
		hidronefroza	+	

Izvor: SCVPH, 2000a; Harbers *et al.*, 1992; Mousing *et al.*, 1997; Berends *et al.*, 1993

Tabela 11 - Mogući nalazi prilikom *post-mortem* inspekcije trupa svinja

Organi/ promene		Detekcija moguća metodom:		
		adspekcije	palpacije	incizije
Atrofični rinitis		+		
Pleuritis		+		
Peritonitis		+		
Fraktura	skorašnja	+	▲	
	starija	+	▲	
Zglobovi - artritis	akutni	+	+	+
	hronični	+	▲	
Ugrizi na repu		+		▲
Mišići	PSE	+		+
	DFD	+		+
Degeneracija		+		
Koža	Oštećenje (omamljivanje strujom)	+		
	inficirane lezije	+		
	mehaničke lezije	+		
	hematomi	+		
	paraziti	+		
	ekcemi	+		
	kontaminacija (feces, žuč, mazivo)	+		
	Slabo iskrvarenje	+		
Neuhranjenost		+		
Emacijacija		+		
Tumori		+		+ (zavisi)
Apscesi		+		+ (zavisi)
Multilokularni limfadenitis		+		▲
Mehanička oštećenja		+		

Izvor: SCVPH, 2000a; ▲ - ponekad

5.3.2 Mikrobiološki kriterijumi

Kriterijumi bezbednosti hrane su definisani samo za kombinacije patogen/hrana za koje se smatra da testiranje uzoraka plasiranih na tržište efikasno doprinosi javnom zdravlju. To ne znači da u drugim slučajevima patogen ne predstavlja rizik za bezbednost hrane, već samo da se mikrobiološki kriterijumi ne smatraju efikasnim u unapređenju bezbednosti hrane (EFSA, 2007e).

Mikrobiološki kriterijum (MC) za bezbednost hrane postavlja jasan standard šta je prihvatljivo. Prema Zakonu o hrani EU (Regulativa EC 178/2002), hrana ne sme da se plasira na tržište ako nije bezbedna, a ako se ustanovi da nije bezbedna dok je na tržištu subjekti koji se bave hranom su obavezni da hranu povuku. Međutim, često nije moguće razgraničiti „bezbednu“ i „nebezbednu“ hranu jer izvestan rizik uvek postoji. Bez mikrobioloških

kriterijuma bi industrija, kao i nadležni organi, morala da vrši samostalne procene u svakoj situaciji i da odlučuje kada i koje mere će primeniti. Stoga, postavljanje mikrobioloških kriterijuma u legislativi obezbeđuje harmonizovani pristup prihvatljivosti hrane sa aspekta bezbednosti.

Iako su u legislativi kriterijumi bezbednosti hrane postavljeni za hranu u prometu, oni utiču na ceo lanac hrane zato što industrija mora da prilagodi celu proizvodnju ispunjavanju ovih kriterijuma, jer ako ih ne ispune - povećan je rizik od štetnih efekata na zdravlje ljudi i ekonomskih gubitaka. Međutim, veoma je teško proceniti jačinu efekta zaštite zdravlja ljudi koji je obezbeđen određenim FSC. FSCa mogu da se koriste u validaciji i verifikaciji HACCP procedura i drugih higijenskih mera. FSCa se koriste i kao način komunikacije o nivou kontrole hazarda koja treba da se postigne. Usled statističkih ograničenja planova uzorkovanja, samo mikrobiološko testiranje može da pruži lažan osećaj sigurnosti, osim ako se dovoljan broj uzoraka testira u određenom vremenu. Većina FSC je bazirana na dvoklasnim planovima uzorkovanja sa 5 ili 10 testiranih jedinica po uzorku. Zato, za patogene koji imaju nisku učestalost prisustva u proizvodnim šaržama hrane postoji visok rizik od nedektovanja kontaminiranih šarži (ICMSF, 2005) i u tim slučajevima je efikasnost FSC u zaštiti potrošača niska. Primarni razlog zbog kojeg je Naučni komitet za veterinarske mere koje se odnose na javno zdravlje (SCVPH, 2003) smatrao da nije podesno da se ustanove mikrobiološki kriterijumi za patogene *E. coli* (npr. *E. coli* O157:H7) jeste njihova niska prevalencija u hrani; takođe, kontrola ovakvih hazarda je efikasnija u ranijim fazama lanca hrane.

Regulativa EC 2073/2005 ne propisuje frekvencije uzorkovanja/testiranja osim za mleveno meso, mehanički separisano meso i poluproizvode od mesa. Dok ovo pruža fleksibilnost u intenzitetu testiranja u skladu sa rizikom, takođe ostavlja mogućnost nekonzistentnosti u testiranju i kontroli. Nije moguće kvantitativno povezati FSC sa rizikom (EFSA, 2007e). Da bi se ustanovila takva veza, neophodno je prvo odrediti frekvencije uzorkovanja i zadovoljenje mikrobioloških kriterijuma („*compliance criteria*“).

Kriterijumi procesne higijene ukazuju na prihvatljivo funkcionisanje proizvodnog procesa i postavljaju indikativni nivo kontaminacije iznad kog se zahtevaju korektivne mere u cilju održavanja higijene procesa u skladu sa zakonom o hrani. Međutim, zbog toga što: a) su vrednosti kontaminacije u većini slučajeva primenjive samo na proizvod na kraju proizvodnog procesa i b) one nisu vezane za vrednosti inicijalne kontaminacije sirovina na nivou određenog proizvođača (koja je obično jako varijabilna), priroda PHC je slična takozvanom

kriterijumu „finalnog proizvoda”. Drugim rečima, većina zadatih PHCa u stvari ne obezbeđuje informaciju o odnosu inicijalne naspram finalne kontaminacije u procesu, već samo o rezultatu procesa. Ove može biti i prednost i mana zavisno da li je svrha da se mikrobiološki karakteriše sam proces ili da se mikrobiološki karakteriše samo status finalnog proizvoda. Sami PHCa nisu dovoljni da karakterišu prihvatljivost procesa, već je njihova uloga da budu integralni deo implementacije procedura zasnovanih na HACCP-u i drugih higijenskih kontrolnih mera, uključujući i za svrhe validacije i verifikacije.

Iz navedenih ograničenja korišćenja mikrobioloških kriterijuma: problemi vezani za uzorkovanje, metodologiju i neravnomernu distribuciju mikroorganizama jasno je da primena mikrobiološkog, samog za sebe, testiranja nikada ne može da garantuje bezbednost hrane. Bezbednost hrane može da se principijelno osigura strukturiranim, preventivnim pristupom - primenom dobre higijenske prakse i HACCP principa (EC, 2005).

II - 6. PRAVCI MOGUĆIH POBOLJŠANJA POSTOJEĆEG SISTEMA BEZBEDNOSTI MESA NA KLANICI

6.1. Praćenje agenasa kroz EU sistem monitoringa zoonoza

U EU sistem za monitoring i sakupljanje informacija o zoonozama je zasnovan na Direktivi o zoonozama 2003/99/EC, koja obavezuje sve članice EU da sakupljaju relevantne podatke i, kada je to pogodno, uporedive podatke o zoonozama, zoonotskim agensima, rezistenciji na antimikrobne lekove i alimentarnim oboljenjima. Ovaj sistem uključuje sakupljanje informacija o prisustvu zoonotskih agenasa u životinjama, namirnicama, stočnoj hrani i ljudima. Da bi se sprečilo ili umanjilo pojavljivanje zoonotskih bolesti u ljudi preko hrane, važno je identifikovati koje životinje i koja hrana su glavni izvori infekcija ljudi. U tom cilju, informacije se sakupljaju i analiziraju u svakoj od država članica EU, da bi se unapredile kontrolne mere u lancu proizvodnje hrane i da se na taj način bolje zaštiti zdravlje potrošača.

Članice EU (ali i neke zemlje van EU, poput Norveške, Švajcarske i Islanda) godišnje podnose informacije o pojavi zoonoza, zoonotskih agenasa i epidemijama alimentarnih oboljenja na svojim teritorijama Evropskoj komisiji i Evropskoj agenciji za bezbednost hrane (*European Food Safety Authority, EFSA*) u Parmi. Dodatne informacije o slučajevima zoonoza u ljudi se dobijaju od Evropskog centra za prevenciju i kontrolu bolesti (*European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC*) u Stokholmu. Uz pomoć Centra za saradnju po pitanju zoonoza (*Zoonoses Collaboration Centre, ZCC*) u Kopenhagenu (do 2010. godine, a od 2011. godine ovaj posao je preuzet od strane *Veterinary Laboratories Agency, VLA, London*), EFSA i ECDC zajedno analiziraju sve podatke i publikuju godišnji Izveštaj o zoonozama (Grafikon 17).

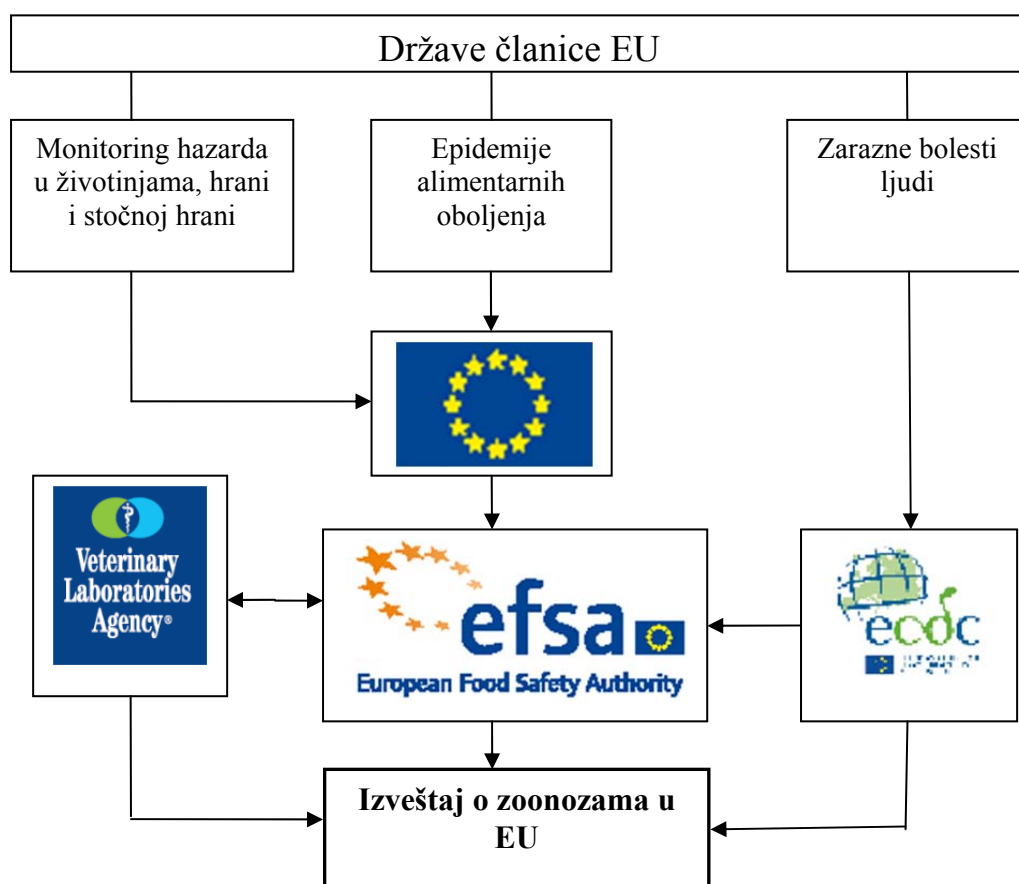
Obavezno je sakupljanje podataka za sledećih osam zoonotskih agenasa: *Salmonella*, termofilni *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes*, verocitotoksična *E. coli*, *Mycobacterium bovis*, *Brucella*, *Trichinella* i *Echinococcus*. Obavezno je i izveštavanje o rezistenciji na antimikrobne lekove za *Salmonella* i *Campylobacter* izolate, kao i o epidemijama alimentarnih oboljenja. Dodatno, zavisno od epidemioloških situacija u pojedinim državama članicama EU, svaka od njih podnosi podatke o sledećim zoonotskim agensima: *Yersinia*, *Toxoplasma*, *Cysticerci*, *Sarcocystis*, *Coxiella burnetii*, *Leptospira* spp., *Clostridium botulinum* itd. Takođe, podnose se i podaci o mikrobiološkim hazardima u hrani za koje su kriterijumi

bezbednosti hrane propisani legislativom EU: histamin, stafilokokni enterotoksini i *Enterobacter sakazakii*.

Evropski centar za prevenciju i kontrolu bolesti (ECDC) obezbeđuje podatke o slučajevima pojave zoonoza ljudi i takođe analizira ove podatke za Izveštaj o zoonozama u EU. Podaci koji se analiziraju se dobijaju pomoću sistema za nadzor (Evropski sistem za nadzor - *The European Surveillance System*, TESSy). TESSy je jedan informacioni sistem za nadzor infektivnih bolesti na nivou Evrope, čija je uloga da sakuplja, validuje, filtrira, analizira i diseminira podatke o infektivnim bolestima u državama članicama EU i EEA/EFTA zemljama. Do 2007. godine, postojalo je više specijalnih mreža za nadzor pojedinih bolesti/hazarda (npr. "Enter-Net" koji je pratio *Salmonella*, *E. coli* O157 i *Campylobacter* ili "Euro-TB" koja je pratila tuberkulozu) ali su danas sve te mreže objedinjene u TESSy. Dosad je postojao veliki problem zbog neusklađenosti sistema monitoringa među državama članicama EU, a ovaj sistem, koji je još uvek u razvojnoj fazi, bi trebalo da omogući standardizovanje sakupljanja podataka iz nadzora nad infektivnim bolestima, obezbedi da na jednom mestu države pružaju i dobijaju informacije o infektivnim bolestima, standardizuje izveštavanje o podacima iz nadzora i da obezbedi konzistentan i lako dostupan pregled trenutne situacije u pogledu infektivnih bolesti u EU.

Izveštaj o zoonozama u EU za određenu godinu je podeljen na tri nivoa. Prvi nivo se sastoji od rezimea, uvoda u izveštaj i glavnih zaključaka u izveštaju. Drugi nivo prikazuje ocenu situacije po pitanju pojedinih zoonoza i zoonotskih agenasa, kao i opis korišćenih materijala i metoda. Prvi i drugi nivo ovog izveštaja se objavljuju u štampanoj formi. Treći nivo izveštaja je sastavljen od pregleda svih podataka koje su podnele države članice i dostupan je samo "online" i na CD-u koji je prikačen uz štampanu formu.

Šeme za monitoring i nadzor za većinu zoonotskih agenasa koji su pokriveni ovim izveštajem nisu usklađene među državama članicama EU, a nekad i u jednoj državi u različitim godinama za koje su dati izveštaji. Takođe, podaci u izveštaju nekada nisu dobijeni iz adekvatno statistički kreiranih planova uzorkovanja i zato ne predstavljaju realnu situaciju neke zemlje po pitanju zoonoza; stoga, takvi podaci nisu direktno uporedljivi među državama i treba da se pažljivo interpretiraju.



Grafikon 17 - Način cirkulisanja podataka potrebnih za dobijanje Izveštaja o zoonozama u EU za određenu godinu

6.2. Alternativni metodi pregleda životinja i mesa na klanici

6.2.1. Proteini akutne faze

Proteini akutne faze (*acute phase proteins*, APP) predstavljaju grupu proteina koji se nalaze u krvi i čija se koncentracija menja kod životinja u čijem organizmu postoji infekcija, inflamacija ili su izložene hirurškoj traumi ili stresu (Murata *et al.*, 2004; Eckersall, 2004). Da bi se određeni serumski protein smatrao proteinom akutne faze potrebno je da promena njegovog nivoa bude najmanje za jednu četvrtinu od inicijalnog, pre nego što je životinja bila izložena nekom izazovu (Kushner, 1982). Ovi proteini se ubrajaju u komponente urođenog (nespecifičnog) imuniteta uključenom u uspostavljanje homeostaze i ograničavanje razmnožavanja mikroorganizama pre nego što životinja razvije stečeni (specifični) imunitet. Koncentracije APP u cirkulaciji su vezane za ozbiljnost bolesti i stepen oštećenja tkiva; stoga pravovremena kvantifikacija njihove koncentracije može da pruži vrednu dijagnostičku i

prognostičku informaciju (Murata *et al.*, 2004). Pored promena koncentracije APP vezanih za prisustvo infektivnog agensa ili fizičkog oštećenja tkiva, koncentracija se menja i u stanjima fizičkog ili psihološkog stresa ljudi i eksperimentalnih životinja, posredno preko uticaja na interleukin-6 (Deak *et al.*, 1997; Nukina *et al.*, 2001), a isto je dokazano i u goveda (Alsemgeest *et al.*, 1995).

Tokom poslednje decenije prošlog i prve decenije ovog veka, napravljen je veliki napredak u monitoringu odgovora APP životinja i njegovom korišćenju u kliničke i eksperimentalne svrhe. Razvijeni su razni testovi za njihovo kvantifikovanje, uz vođenje računa o specifičnosti pojedinih vrsta životinja i pojedinih APP. Takođe, sve je veći interes u razjašnjavanju mehanizama APP reakcije i standardizovanju testova za njihovo merenje (Eckersall *et al.*, 1999).

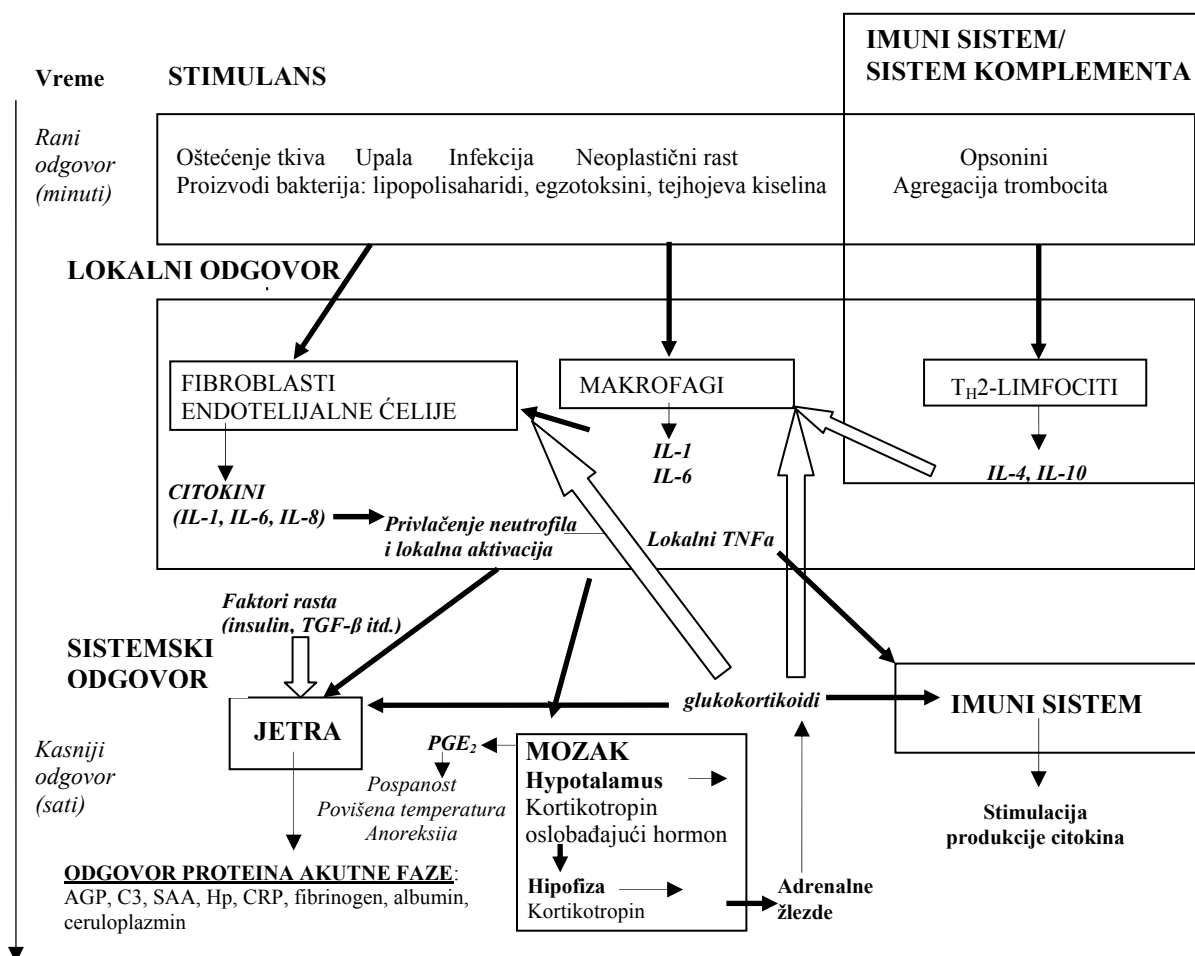
Termin „akutna faza“ je uveden 1941. godine u cilju opisivanja seruma koji je sadržao jedan od proteina akutne faze, C-reaktivni protein (Petersen *et al.*, 2004). Prvi protein akutne faze koji je otkriven, pre oko 80 godina (Tillet *et Francis*, 1930), je C-reaktivni protein koji je danas postao vrlo važan indikator u dijagnostici inflamatornih lezija, kao i prognozi bolesti i prognozi odgovora na lečenje ljudi (Gabay *et Kushner*, 1999).

Proteini akutne faze mogu da se podele na „pozitivne“ i „negativne“ u odnosu na to da li im se koncentracija povećava ili smanjuje tokom odgovora organizma na neki izazov. U pozitivne APP spadaju haptoglobin, C-reaktivni protein, serum amiloid A, ceruloplazmin, fibrinogen, α 1-acid glikoprotein itd. Ove glikoproteine sintetišu hepatociti nakon stimulacije proinflamatornim citokinima, a zatim ih oslobađaju u krv. U negativne APP spadaju albumin i transferin koji se takođe sintetišu u jetri, ali u manjem obimu kada je organizam izložen nekom izazovu nego kada je u stanju homeostaze. Moguća je i ekstrahepatična sinteza APP u većine sisara (Vreugdenhil *et al.*, 1999; Uhlar *et Whitehead*, 1999).

Takođe, proteini akutne faze mogu da se podele i prema jačini odgovora u organizmu. Tako, na primer, APP snažnog odgovora u goveda su oni čija se koncentracija nakon nekog izazova povećava 10-100 puta; u tu grupu spadaju serum amiloid A i haptoglobin. U grupu proteina akutne faze umerenog odgovora u goveda spadaju α 1-acid glikoprotein i α 1-antitripsin, čija se koncentracija povećava do 10 puta. APP sa blagim odgovorom su ceruloplazmin i fibrinogen čiji se nivoi povećavaju samo do 5 puta.

6.2.1.1. Odgovor organizma u akutnoj fazi

„Odgovor akutne faze“ se smatra dinamičkim procesom koji uključuje sistemske i metaboličke promene (Grafikon 18) i koji obezbeđuje rani nespecifični odbrambeni mehanizam protiv infektivnog agensa, pre nego što se specifični imunitet razvije (Saini *et al.*, 1991; Suffredini *et al.*, 1999). Uloga mu je da spreči dalje oštećenje tkiva koje je nastalo usled zapaljenja, da izoluje i uništi infektivne mikroorganizme i da aktivira procese odgovorne za reparaciju oštećenog tkiva, odnosno vrati organizam domaćina u normalno stanje - homeostazu (Baumann *et al.*, 1994). Odgovor akutne faze je indukovano oslobađanjem citokina poput interleukina-1 (IL-1), interleukina-6 (IL-6) i α -faktora nekroze tumora (TNF α) iz makrofaga i monocita koji su aktivirani na mestima inflamatornih lezija ili infekcija (Heinrich *et al.*, 1990), prisustvom npr. medijatora zapaljenja ili bakterijskih toksina. Povećanje koncentracije citokina u cirkulaciji tada stimuliše hepatični odgovor akutne faze (Moshage, 1997). Citokini se ponašaju kao „prenosioci informacija“ između mesta u organizmu na kome je nastala neka promena i hepatocita koji potom sintetišu proteine akutne faze. U prvih nekoliko sati od indukcije sinteze, koncentracija interleukina dostiže maksimum u krvotoku (Horagoda *et al.*, 1994; Weibel *et al.*, 1997) i stimuliše hepatocite na sintezu APP, a nakon toga koncentracija interleukina brzo opada tako da ga nakon nekoliko sati skoro da nema u krvi (Weibel *et al.*, 1997; Fossum *et al.*, 1998). Akutni odgovor organizma, odnosno njegovi medijatori mogu da se dokažu nekoliko dana od stimulusa, ali kinetika odgovora zavisi od životinjske vrste i od stepena oštećenja tkiva (Kushner *et al.*, 1987). Maksimalna koncentracija proteina akutne faze u serumu se uglavnom postiže nakon 24-48 časova od stimulusa. Danas, ne postoje opšteprihvaćene standardne vrednosti proteina akutne faze koje bi razgraničavale kategorije zdravih ili bolesnih životinja.



Grafikon 18 - Odgovor akutne faze (Petersen *et al.*, 2004)

Tabela 12 - Glavne karakteristike sistemskog odgovora organizma u akutnoj fazi

Klinički znaci:	Groznica, somnolencija, inapetencija
Endokrine promene:	Povećana sekrecija kortikotropin oslobađajućeg hormona, kortikotropina, ACTH, kortizola, hormona rasta, kateholamina, glukagona i insulina
Metaboličke promene:	Pojačan katabolizam proteina, povećana glukoneogeneza, proizvodnja proteina akutne faze u jetri
Hematološke promene:	Leukocitoza, trombocitoza, smanjena koncentracija cinka (hipocinkemija) i gvožđa (hipoferemija), povećana koncentracija bakra (hiperkupremija) u krvi
Imunološke promene:	Hiporeaktivnost limfocita, smanjena fagocitna aktivnost makrofaga
Neurološke promene:	Depresija CNS, bol usled povećanja koncentracije vazoaktivnih amina

Tabela 13 - Biološke aktivnosti pojedinih proteina akutne faze

APP	Aktivnost
Haptoglobin	Vezivanje hemoglobina
	Bakteriostatski efekat
	Stimulacija angiogeneze
	Uloga u metabolizmu masti
	Imunomodulatorni efekat
	Inhibicija nagomilavanja neutrofila u respiratornom traktu
C-reaktivni protein	Aktivacija komplementa i opsonizacija
	Modulacija monocita i makrofaga, produkcija citokina
	Vezivanje hromatina
	Prevenicija migracija neutrofila u tkivu
Serum amiloid A	Transport holesterola iz umirućih ćelija do hepatocita
	Ublažava groznicu
	Hemotoksični efekat na monocite, polimorfonuklearne leukocite i T ćelije
	Indukcija mobilizacije kalcijuma od strane monocita
	Inhibicija aktivacije trombocita

Izvor: Petersen *et al.*, 2004

6.2.1.2 Primena proteina akutne faze u veterinarskoj medicini

6.2.1.2.1 Haptoglobin

Haptoglobin (Hp) je α_2 -globulin molekulske mase oko 125 kDa, sastavljen od 4 lanca povezana disulfidnim vezama (Petersen *et al.*, 2004), čija je osnovna uloga da vezuje slobodni hemoglobin koji je toksičan i medijator je inflamacije (Wagener *et al.*, 2001). Pored drugih bioloških funkcija haptoglobina navedenih u Tabeli 13, njegova primarna uloga je da spreči gubitak gvožđa formiranjem vrlo stabilnog kompleksa sa slobodnim hemoglobinom u krvi. Smatra se da ima bakteriostatski efekat ograničavajući dostupnost gvožđa u krvi koje je neophodno za rast bakterija (Bullen, 1981; Eaton *et al.*, 1982). Na primer, dokazano je da haptoglobin čoveka inhibiše rast *Streptococcus pyogenes* in vitro (Delanghe *et al.*, 1998), a kod pacova koji su intraperitonealno inokulisani sa patogenom *E. coli*, letalitet je bio značajno manji u grupi kojoj je istovremeno aplikovan haptoglobin (Eaton *et al.*, 1982). Osim odgovora akutne faze, drugi faktori takođe mogu da utiču na serumsku koncentraciju Hp. Povišen nivo slobodnog hemoglobina u krvi prati smanjenje koncentracije slobodnog haptoglobina, pa tako u slučajevima akutne hemolize kod babezioze goveda (Bremner, 1964) ili posthirurških hematoma konja (Kent *et Goodall*, 1991), Hp ne može da se dokaže u cirkulaciji.

6.2.1.2.1.1. Primena testiranja haptoglobina u veterinarskoj medicini

Hp predstavlja protein akutne faze koji može biti koristan za kliničke svrhe u mnogih vrsta domaćih životinja. Kod zdravih preživara nivo mu je nizak, ali može da se uveća i više od sto puta nakon stimulacije imunog sistema (Conner *et al.*, 1988; Conner *et al.*, 1989). Za kvantitativne analize goveđeg Hp, koriste se razni testovi koji funkcionišu na principima vezivanja Hp za hemoglobin (Makimura *et Suzuki*, 1982), ELISA (Young *et al.*, 1995; Godson *et al.*, 1996; McNair *et al.*, 1997; Nakagawa *et al.*, 1997), jednosmerne radijalne imunodifuzije (Morimatsu *et al.*, 1992) i kapilarne elektroforeze (Pirlot *et al.*, 1999).

Neka od mnogobrojnih prirodni i veštački indukovanih stanja goveda i svinja u kojima je nivo ovog proteina povišen su prikazana u Tabelama 14 do 17. Dokazana je korisnost haptoglobina u razlikovanju akutnog i hroničnog zapaljenja (Alsemgeest *et al.*, 1994; Horadagoda *et al.*, 1999) i predložen je kao indikator efekta lečenja životinja (Carter *et al.*, 2002; Berry *et al.*, 2004) i prognoze lečenja (Godson *et al.*, 1996). Dokazano je da haptoglobin, kao i neki drugi proteini akutne faze, može biti koristan u diferencijaciji „zdravih“ i „bolesnih“ grupa goveda (Saini *et al.*, 1998; Turlomoussis *et al.*, 2004; Ganheim *et al.*, 2007) i svinja (Petersen *et al.*, 2002b; Parra *et al.*, 2006; Pallares *et al.*, 2008) u prirodnim uslovima.

6.2.1.2.1.1.1. Goveda

Goveđi haptoglobin se sastoji od dva monomera težine 16 do 23 kDa (α lanci) i dva β lanca molekulske mase 35 do 40 kDa a u krvi goveda egzistira kao polimer spojen sa albuminom sa ukupnom molekulskom masom preko 1000 kDa (Eckersall *et Conner*, 1990). Trenutno, ne postoje opšte prihvaćene standardne vrednosti haptoglobina koje bi odredile da su goveda zdrava (Conner *et al.*, 1988; Young *et al.*, 1995; Saini *et al.*, 1998). Publikovane studije ukazuju na prosečnu vrednost haptoglobina u krvi zdravih goveda od oko nula (Skinner *et al.*, 1991; Alsemgeest *et al.*, 1994; Salonen *et al.*, 1996; Horadagoda *et al.*, 1999) ili sve do 100 $\mu\text{g/ml}$ (Young *et al.*, 1995; Saini *et al.*, 1998; Horadogada *et al.*, 1999). Takođe, u zdravih životinja (bez kliničkih znakova i/ili patomorfoloških lezija) nivoi najznačajnijih proteina akutne faze, uključujući Hp su viši u starijih životinja (Horadogada *et al.*, 1999).

Prema nekim objavljenim podacima, haptoglobin je značajno viši u goveda sa patološkim promenama (detektovanim *ante-* i *post-mortem*) nego u zdravih (Alsemgeest *et al.*, 1994; Hirvonen *et al.*, 1997; Saini *et al.*, 1998; Horadogada *et al.*, 1999). Viša

koncentracija haptoglobina je zabeležena u mlečnih krava, koje su imale veću prevalenciju patoloških lezija, u poređenju sa junadima (Saini *et al.*, 1998); stoga su autori sugerisali da testiranje haptoglobina može biti korisno u unapređenju bezbednosti hrane. Takođe, kod prinudno zaklanih muznih krava, zabeležene su više koncentracije Hp (Hirvonen *et al.*, 1997) nego u onih iz normalnog klanja. U teladi, Hp koncentracija u serumu ukazuje na postojanje vidljivih lezija utvrđenih na *post-mortem* inspekciji, ali Hp koncentracija nije u korelaciji sa težinom tih lezija (Gray *et al.*, 1996).

Tabela 14 - Neke prirodno izazvane bolesti/stanja u goveda sa značajno povišenim nivoom Hp

Bolest/stanje	Literaturni izvor
Metritis	Smith <i>et al.</i> , 1998a; Hirvonen <i>et al.</i> , 1999; Huzzey <i>et al.</i> , 2009
Hepatična lipidoza (masna jetra)	Yoshino <i>et al.</i> , 1992; Nakagawa <i>et al.</i> , 1997; Katoh <i>et al.</i> , 1999
Mastitis	Smith <i>et al.</i> , 1998; Eckersall <i>et al.</i> , 2001; Ohtsuka <i>et al.</i> , 2001; Nielsen <i>et al.</i> , 2004
Respiratorna bolest (uzročnik goveđi respiratorni sincicijalni virus)	Orro <i>et al.</i> , 2011
Respiratorna bolest (uzročnik <i>Pasteurella multocida</i>)	Nikunen <i>et al.</i> , 2007
Respiratorna bolest teladi (uzročnici <i>P. multocida</i> , <i>M. dispar</i> , <i>M. bovirhinis</i> ili <i>H. somni</i>)	Angen <i>et al.</i> , 2009
Laminitis	Smith <i>et al.</i> , 2009
Endokarditis, perikarditis	Nazifi <i>et al.</i> , 2009
Slinavka i šap	Hofner <i>et al.</i> , 1994
Amiloidoza	Takahashi <i>et al.</i> , 2007
Hirurška trauma - kastracija	Faulkner <i>et al.</i> , 1992; Fisher <i>et al.</i> , 2001; Earley <i>et al.</i> , 2002
Hirurška trauma - ruminotomija	Morimatsu <i>et al.</i> , 1992
Bakterijska kontaminacija i odložena involucija materice	Sheldon <i>et al.</i> , 2001

Tabela 15 - Neke eksperimentalno izazvane bolesti/stanja u goveda sa značajno povišenim nivoom Hp

Bolest/stanje	Literaturni izvor
Infekcija sa <i>Salmonella</i> spp. - gastroenteritis (telad)	Deignan <i>et al.</i> , 2000
Infekcija sa goveđim respiratornim sincicijalnim virusom	Heegaard <i>et al.</i> , 2000
Infekcija sa virusom goveđe dijareje i <i>Manheimia haemolytica</i>	Ganheim <i>et al.</i> , 2003
Infekcija sa <i>Pasteurella multocida</i> biotip A:3	Dowling <i>et al.</i> , 2002
Infekcije sa bovinim herpes virusom tipa 1 i <i>Pasteurella haemolytica</i> serotipa A1	Godson <i>et al.</i> , 1996
Pneumonija (infekcija sa <i>P. haemolytica</i>)	Katoh et Nakagawa, 1998
Izloženost kompleksnom stresu	Lomborg <i>et al.</i> , 2008
Trodnevno gladovanje	Katoh <i>et al.</i> , 2002
Mastitis izazvan sa <i>E. coli</i>	Salonen <i>et al.</i> , 1996; Suojala <i>et al.</i> , 2008
Infekcija sa <i>Theileria annulata</i> (slabo povišen Hp)	Glass <i>et al.</i> , 2003
Infekcija sa <i>Dictyocaulus viviparus</i>	Ganheim <i>et al.</i> , 2004
Acidoza buraga	Danscher <i>et al.</i> , 2011

Pored određivanja nivoa haptoglobina u krvnom serumu, mnogobrojne su studije u kojima je meren nivo haptoglobina, ali i drugih APP u mleku goveda. Tako je utvrđeno da je nivo haptoglobina u mleku krava povišen kod eksperimentalno izazvanog hroničnog supkliničkog (Gronlund *et al.*, 2003; Gronlund *et al.*, 2005; Eckersall *et al.*, 2006) i kliničkog mastitisa (Eckersall *et al.*, 2001).

Uloga haptoglobina u stresu goveda nije još uvek razjašnjena. Neke studije ukazuju da se koncentracija haptoglobina povećava u goveda izloženih stresu (Murata *et al.*, 1993; Lomborg *et al.*, 2008), dok druge ukazuju da Hp koncentracija ostaje nepromenjena, ali je u istim studijama dokazano da se koncentracije drugih pozitivnih APP, poput serum amiloida A, povećavaju (Almeeguest *et al.*, 1995; Hickey *et al.*, 2003).

6.2.1.2.1.1.2. Svinje

Procenjuje se da je molekulska masa svinjskog haptoglobina oko 120 kDa (Petersen *et al.*, 2004). U ovom momentu, ne postoje opšteprihvaćeni standardi za nivoe haptoglobina zdravih i bolesnih svinja (Hall *et al.*, 1992; Petersen *et al.*, 2001; Knura-Deszczka *et al.*, 2002). Prosečne vrednosti Hp koncentracije u svinja koje potiču sa SPF (“*specific pathogen free*“) farmi su niže u odnosu na konvencionalne farme, ali je pri tome i starost svinja bitan faktor - sa starošću se koncentracija haptoglobina u krvi povećava (Petersen *et al.*, 2002b). Na

konvencionalnim farmama, vrednosti haptoglobina u svinja starih oko šest meseci (najčešće doba za klanje) su u jednoj studiji bile u proseku oko 500 µg/ml, sa individualnim varijacijama od oko 300 µg/ml pa do 900 µg/ml (Pallares *et al.*, 2008), a u drugoj prosečno 930 µg/ml, sa individualnim varijacijama od oko 500 µg/ml pa do preko 1500 µg/ml (Petersen *et al.*, 2002b).

Kod svinja na klanju, nađeno je da povišenje koncentracije Hp ukazuje na apscese i hronične lezije (Touissant *et al.*, 1995). Merenje koncentracije Hp može da se koristi u diferencijaciji zdravih svinja i svinja koje su zaostale u razvoju usled subkliničkih infekcija (Eurell *et al.*, 1992). Takođe, merenje Hp koncentracije može da se koristi u rutinskim proverama zdravstvenog statusa krda u integrisanim proizvodnim sistemima (Lipperheide *et al.*, 1998; Petersen *et al.*, 2001).

Tabela 16 - Neke prirodno izazvane bolesti/stanja u svinja sa značajno povišenim nivoom Hp

Bolest/stanje	Literaturni izvor
Ugrizi na repu	Petersen <i>et al.</i> , 2002; Heinonen <i>et al.</i> , 2009
Pneumonija (<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>)	Amory <i>et al.</i> , 2007
Sindrom zakržljalosti odlučene prasadi (PMWS)	Segales <i>et al.</i> , 2004; Grau-Roma <i>et al.</i> , 2009
Stres - prolongiran transport	Pineiro <i>et al.</i> , 2007
Kastracija prasadi	Lackner <i>et al.</i> , 2002
Dijareja	Petersen <i>et al.</i> , 2002
Respiratorna oboljenja	Petersen <i>et al.</i> , 2002

Tabela 17 - Neke eksperimentalno izazvane bolesti/stanja u svinja sa značajno povišenim nivoom Hp

Stanje	Literaturni izvor
Infekcija sa virusom PRRS	Asai <i>et al.</i> , 1999; Gomez-Laguna <i>et al.</i> , 2009
Infekcija sa <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	Heegaard <i>et al.</i> , 1998, Agerso <i>et al.</i> , 1998
Infekcija sa <i>Toxoplasma gondii</i>	Jungersen <i>et al.</i> , 1999
Infekcija sa <i>Bordetella bronchiseptica</i> i toksogenom <i>Pasteurella multocida</i> tip D	Francisco <i>et al.</i> , 1996
Infekcija sa <i>Haemophilus parasuis</i>	Martin de la Fuente <i>et al.</i> , 2008
Infekcija sa <i>Streptococcus suis</i>	Knura-Deszczka <i>et al.</i> , 2002; Sorensen <i>et al.</i> , 2006
Enterotoksemija (uzročnik enterotoksogena <i>Escherichia coli</i>)	Carroll <i>et al.</i> , 2004
Infekcija sa <i>Mycoplasma hyorhinis</i>	Magnusson <i>et al.</i> , 1999
Infekcija virusom afričke svinje kuge	Carpintero <i>et al.</i> , 2005a
Infekcija virusom Aujeckijeve bolesti	Carpintero <i>et al.</i> , 2005b
Infekcija sa <i>Mycoplasma hyorhinitis</i>	Magnusson <i>et al.</i> , 1999

6.2.1.2.2. C-reaktivni protein

C-reaktivni protein (CRP) je otkriven u krvi ljudi obolelih od pneumokokalne pneumonije, a nazvan je tako zbog mogućnosti da veže pneumokokalni C-polisaharid (Tillet *et Francis*, 1930). Molekulske mase je oko 115 kDa i sastoji se od pet nekovalentno povezanih polipeptidnih subjedinica (Pepys *et Baltz*, 1983). U humanoj medicini, smatra se pouzdanim u razlikovanju virusnih od bakterijskih infekcija. Bakterijski meningitis rezultira značajnim povećanjem koncentracije CRP, dok kod virusnog nema promena (Peltola, 1982), a dokazana je korisnost CRP u razlikovanju bakterijske i virusne pneumonije (McCarthy *et al.*, 1978). Međutim, drugi autori osporavaju korisnost CRP u razlikovanju bakterijske i virusne infekcije zbog velikih individualnih varijacija u njegovoj produkciji među obolelima u oba slučaja (Salonen *et Vaheri*, 1981). Takođe, skorija istraživanja ukazuju da blago povišena koncentracija može biti validan marker za povećan rizik od srčanih bolesti ljudi (Ledue *et Rifai*, 2003; Sellmayer *et al.*, 2003). Najvažnije biološke funkcije CRP su navedene u Tabeli 13. Koncentracija CRP se povećava za vreme ranih faza infekcije, pre i nego se uoči porast telesne temperature (Saini *et Webert*, 1991). Iako je ukazano na povišenje koncentracije CRP u goveda prilikom prirodno nastalih infekcija i korelacije sa zdravstvenim statusom stada (Lee *et al.*, 2003), CRP se generalno ne smatra značajnim APP u goveda (Nakajima *et al.*, 1993). Kada je reč o svinjama, koncentracija CRP se povećava u krvi nakon aseptične inflamacije izazvane terpentinom (Lampreave *et al.* 1994; Eckersall *et al.*, 1996) i infekcije sa *A. pleuropneumoniae* (Heegaard *et al.*, 1998; Lauritzen *et al.*, 2003), a koncentracija CRP ima jasnu korelaciju sa težinom kliničkih znakova i efektom antibiotske terapije u eksperimentalno izazvanoj infekciji sa *A. pleuropneumoniae* (Lauritzen *et al.*, 2003).

6.2.1.2.3 Serum amiloid A

Molekularna masa prirodne forme serum amiloida A (SAA) je oko 180 kDa jer se SAA normalno nalazi vezan za lipoproteine; nakon denaturacije, procenjena masa je između 9 i 14 kDa, zavisno od vrste životinja (Pepys *et Baltz*, 1983). Kod goveda je specifična mlečna forma SAA ("milk SAA") koja ukazuje na lokalnu sintezu ovog proteina u vimenu usled mastitisa (Eckersall *et al.*, 2001). Biološke funkcije SAA su navedene u Tabeli 13, a stanja u kojima je povišen u goveda i svinja u Tabeli 18.

Tabela 18 - Povišen nivo serum amiloida A pri nekim stanjima u goveda i svinja

Životinjska vrsta	Uzrok	Literaturni izvor
Goveda	zapaljenje	Alsemgeest <i>et al.</i> , 1994; Karreman <i>et al.</i> , 2000
	supkliničko zapaljenje	Karreman <i>et al.</i> , 2000
	mastitis	Hirvonen <i>et al.</i> , 1999b; Eckersall <i>et al.</i> , 2001; Pedersen <i>et al.</i> , 2003
	infekcija sa <i>Pasteurella haemolytica</i> serotip 1	Horagoda <i>et al.</i> , 1994
	eksperimentalna infekcija sa with BVD virusom i/ili <i>Mannheimia haemolytica</i>	Ganheim <i>et al.</i> , 2003
	eksperimentalna infekcija sa bovinim respiratornim sincicijalnim virusom	Heegaard <i>et al.</i> , 2000
	trodnevno uskraćivanje hrane	Katoh <i>et al.</i> , 2002
Svinje	hirurški zahvati	Jacobson <i>et al.</i> , 2001
	infekcija sa <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> serotip 5	Heegaard <i>et al.</i> , 1998

6.2.1.2.4 Ostali proteini akutne faze

Alfa 1-acid glikoprotein (AGP). AGP je važan protein akutne faze u goveda i u nekoliko studija je dokazano da mu je koncentracija povišena kod bolesnih životinja (Conner *et al.*, 1988; Conner *et al.*, 1989; Hirvonen *et al.*, 1999a; Ohtsuka *et al.*, 2001). Dokazano je i da je povišen kod svinja obolelih od pneumonije ili meningitisa (Itoh *et al.*, 1993). Kod pilića, takođe ima klinički značaj - povišen je kod onih inficiranih raznim bakterijskim ili virusnim patogenima (Nakamura *et al.*, 1996; Inoue *et al.*, 1997; Nakamura *et al.*, 1998; Takahashi *et al.*, 1998).

Ceruloplazmin (Cp). Primena Cp u veterinarskoj dijagnostici nije tako razvijena kao primena drugih APP, ali postoje mnogobrojne studije koje potvrđuju da je ovaj protein indikator infekcije u goveda (Conner *et al.*, 1988; Conner *et al.*, 1989; Chassagne *et al.*, 1998; Sheldon *et al.*, 2001) i pilića (Piercy, 1979).

Fibrinogen (Fb). Fb može biti pouzdan indikator prisustva inflamacije, bakterijske infekcije ili hirurške traume u goveda (Hirvonen *et al.*, 1996; Hirvonen *et al.*, 1998) i ovaca (Pfeffer *et al.*, 1993), kao i stresa usled kastracije teladi (Fisher *et al.*, 1997).

Transferin (Tf). Veruje se da ovaj protein predstavlja deo urođenog imuniteta koji vezuje jone gvožđa i tako sprečava da ih koriste patogeni mikroorganizmi (Law, 2002). Generalno je prihvaćeno da je Tf negativni APP jer mu nivo opada u goveda sa akutnim infekcijama (Moser *et al.*, 1994; McNair *et al.*, 1998) i u svinja kojima je veštački izazvana akutna salmoneloza (Kramer *et al.*, 1985). Nasuprot tome, nivo Tf, odnosno ovotransferina, je povišen u pilića koji pate od inflamacije i infektivnih bolesti (Xie *et al.*, 2002), ukazujući da je ovotransferin u živine ipak pozitivni APP.

Albumin (Alb). Ovaj protein je prihvaćen kao negativni APP u većine vrsta životinja. Nivo ovog proteina u krvi opada usled slabe ishrane ili gladovanja (Toussaint *et al.*, 2005).

6.2.2. Alternativni metodi za detekciju nekih specifičnih bolesti pre klanja

Alternativni pristupi inspekciji mesa u integrisanom sistemu mogu da uključuju zdravstvene mere u stadima koje se primenjuju tokom pre-harvest faze (Snijders *et van Knapen*, 2002), kao i mere za redukciju ili sprečavanje širenja hazarda za javno zdravlje tokom transporta ili boravka u depou životinja pre klanja. Razvoj i primena mera za kontrolu zoonoza, dijagnostiku bolesti, monitoring/nadzor i sledljivost mogu biti korisni u prevenciji bolesti životinja odnosno prevenciji slanja na rutinsko klanje životinja sa stanjima koja predstavljaju potencijalni rizik za javno zdravlje (EFSA, 2004).

6.2.2.1. Cisticerkoza

Prema podacima iz klanica, prevalencija cisticerkoze u goveda u EU varira između 0.01% i 6.8%, a prevalencija cisticerkoze u svinja je znatno manja - u nekim zemljama se veruje da je ova bolest u svinja iskorenjena, dok je u drugim prevalencija 0.0003-0.6% (SCVPH, 2000b). Međutim, ovi podaci treba da se uzmu sa rezervom jer se smatra da je realna prevalencija viša 3-10 puta od one koja se detektuje metodima konvencionalne inspekcije mesa, tj. incizijama predilekcionih mesta praćenih vizuelnom inspekcijom (SCVPH, 2000b). U jednoj studiji je dokazano da se organoleptičkom *post-mortem* inspekcijom mesa otkriva samo jedan deo

inficiranih goveda (Onyango-Abuje *et al.*, 1995), a u drugoj studiji da se inspekcijom mesa otkriva tek svaka petnaesta životinja koja je inficirana (Dorny *et al.*, 2000).

Na pre-harvest nivou, vakcinacija goveda protiv cisticerkoze je bila predložena (Lightowlers *et al.*, 1996), pošto je eksperimentalno utvrđeno da se postiže zaštita od 99.8%. U fazi neposredno pre klanja, ELISA serološki metod može da se koristi da se detektuju goveda koja u cirkulaciji nose antigen ovog parazita (Dorny *et al.*, 2000). Kada je reč o cisticerkozi svinja, pošto se invazija ljudi sa *T. solium* ne smatra značajnim problemom u EU trenutno, malo pažnje se posvećuje ovoj bolesti. U Mišljenju SCVPH iz 2000. godine o ovom problemu se ipak naglašava da bi se njemu trebalo više posvetiti, a takođe i razvoju testova za otkrivanje inficiranih životinja za vreme odgoja na farmi.

Sveukupno, osetljivost tradicionalne inspekcije mesa u detekciji cisticerkoze je niska i mogla bi se unaprediti korišćenjem alternativnih metoda zasnovanih na analizama krvi (SCVPH, 2000b). Međutim, treba imati na umu da metodi koji su zasnovani na detekciji specifičnih antitela ne mogu da razlikuju da li je infekcija prisutna ili je prošla, odnosno da li su ciste prisutne u mišićima i da li su vijabilne; stoga su ovi testovi više korisni u epidemiološkim studijama nego kao alternativa inspekciji mesa. S druge strane, metodi koji detektuju parazitske antigene u serumu mogu da ukažu na aktivnu infekciju, tj. prisustvo vijabilnih cista i validacija ovakvih metoda je hitno potrebna. Dodatno, u integrisanom sistemu, dijagnostika cisticerkoze može da se razmatra u kontekstu i drugih mera u kontroli ove bolesti, npr. zaštiti životne sredine od kontaminacije netretiranim fekalijama ljudi (EFSA, 2004).

6.2.2.2. Bovina tuberkuloza

Danas, dijagnostika ove bolesti goveda na farmi se primarno zasniva na intradermalnoj aplikaciji *M. bovis* tuberkulina (SITT test). Ako je potrebno da se isključi mogućnost unakrsne reakcije sa *M. avium*, paralelno se aplikuje tuberkulin spravljen od ovog agensa. Literaturni podaci ukazuju da je osetljivost ovog testa u proseku oko 90%, a da specifičnost može biti i preko 99.9% (Costello *et al.*, 1997; de la Rua-Domenech *et al.*, 2006). Kada je u pitanju bezbednost mesa, osetljivost tuberkulinskog testa koja je manja od 100% ukazuje da jedan deo inficiranih životinja može ostati neotkriven (posebno u stadima sa malim brojem inficiranih) i da ih je moguće otkrivati tek u klanici („klanični slučajevi”). Pored

intradermalnog testa, primenjuju se i drugi poput IFN- γ testa, u obliku raznih komercijalno dostupnih testova, koji takođe imaju vrlo dobre performanse (Morrison *et al.*, 2000). Međutim, zaključeno je (EFSA, 2004) da nijedan od trenutno dostupnih metoda za detekciju bovine tuberkuloze nije dovoljno pouzdan da se primenjuje sam, kao alternativa, već samo u kombinaciji sa postmortalnim pregledom mesa.

6.2.3. Metodi za detekciju mikrobiološke kontaminacije mesa trupova

Kao što je već navedeno u ranijim potpoglavljima, uzročnici najznačajnijih bakterijskih bolesti koji se prenose putem mesa se često nalaze u fecesu i zdravih i bolesnih životinja, a tokom klanja i obrade postoji visok rizik od direktne ili indirektne fekalne kontaminacije trupova, koja može biti vidljiva golim okom ali i ne mora.

Direktnu detekciju patogena na mesu na liniji klanja (bez laboratorijskog ispitivanja) trenutno nije moguće rutinski sprovoditi. Čak i kod primene laboratorijskog ispitivanja, postoje praktični problemi koji se odnose na neravnomernu distribuciju patogena na trupovima i nemogućnost uzorkovanja celog trupa, kao i na postupanje sa mesom u vremenu do dobijanja rezultata (Buncic, 2006). S druge strane, teškoće prilikom korišćenja testiranja mesa na mikroorganizme indikatore fekalnog zagađenja uključuju činjenicu da nije dokazana kvantitativna korelacija između indikator organizama i patogena.

Alternativno, razvijani su metodi za detekciju prisustva na mesu organskog, odnosno fekalnog materijala i/ili specifične hemijske komponente koje potiču od mikroorganizama.

U cilju otkrivanja fekalnog materijala na mesu, razvijeni su uređaji kojima se detektuje hlorofil koji se nalazi u fecesu životinja hranjenih zelenim hranivima (Kim *et al.*, 2003). Primer je "VerifEYE" hlorofil detektor; ova tehnologija je uvedena u neke klanice u USA i pomaže u efikasnijoj detekciji, a time i odstranjivanju, fekalnog materijala sa trupova; kao i u verifikaciji higijene procesa obrade trupova. Da bi fekalni materijal mogao lakše da se detektuje i u životinja čija je ishrana više bazirana na koncentrovanim hranivima, u Evropi je predložen sistem dodavanja u hranu životinja za proizvodnju mesa granula koje sadrže fluorescentni marker baziran na hlorofilu (Lee *et al.*, 2009).

Za otkrivanje hemijskih komponenti mikroorganizama na mesu, postoje predlozi da se koristi uređaj za brzo merenje nivoa mikrobiološkog ATP na trupovima, a koji je navodno u direktnoj korelaciji sa ukupnim brojem bakterija na trupovima (Siragusa *et al.*, 1995). Isto

tako, razvijen je i test koji otkriva nivo mikrobne fosfataze, koji opet može da se poveže sa ukupnim brojem bakterija na površini trupa (Kang *et Siragusa*, 2002).

6.3. Alternativni metodi za ocenu procesne higijene u klanicama

U oceni procesne higijene u klanicama, u literaturi su opisana dva glavna pristupa: vizuelna ocena higijene i mikrobiološko testiranje (danas najčešće u sklopu HACCP).

Sistem vizuelne ocene higijene predstavlja tradicionalni pristup, a primer ovakvog sistema je HAS (*Hygiene Assessment System*) koji se koristio u Velikoj Britaniji. Od 1995. godine, ovaj sistem se zvanično sprovodio pod okriljem Službe za higijenu mesa (*Meat Hygiene Service*, MHS) (Pinillos *et Jukes*, 2008) u cilju merenja higijenskih standarda u klanicama i objektima za rasecanje mesa da bi se ocenilo u kom je stepenu rad u klanici u saglasnosti sa priznatom najboljom higijenskom praksom i odnosnom legislativom. HAS je uključivao posmatranja stanja i rada u klanici koja je sprovodio ovlašćeni veterinar (strukturu objekta, opremu i higijenu operacija) i zatim davao ukupnu ocenu između 0 i 100 (MHS, 2005). U studiji Hudson *et al.* (1996), dokazana je značajna korelacija između HAS ocene i srednje vrednosti ukupnog broja bakterija na goveđim trupovima, ali ne i između HAS ocene i broja koliforma na istim trupovima. Najveći nedostatak HAS sistema je u tome što je subjektivan i ne uključuje korišćenje podataka o mikrobiološkom statusu trupa ni tokom ni na kraju procesa (MHS, 2002). Od 2003. godine, počelo je uvođenje sistema HACCP u klanice u Velikoj Britaniji, koji je zamenio HAS, jer je ocenjeno da je veći benefit za javno zdravlje usmeravanje obuke i rada ovlašćenih veterinarara na implementaciju i audiciju HACCP sistema (MHS, 2002).

Noviji pristup ocene procesne higijene u klanicama u EU je baziran na mikrobiološkom testiranju finalnih trupova i radnih površina u okviru HACCP-a, prema zvaničnim kvantitativnim mikrobiološkim kriterijumima. Ovi kriterijumi su navedeni u Odluci Evropske komisije 2001/471/EC i odnosnim amandmanima, koji su kasnije nazvani EU mikrobiološki kriterijumi za trupove (opisani u poglavlju 5.2). Iako je ovaj sistem bolji od tradicionalnog, vizuelnog sistema HAS, pošto je ocena procesne higijene bazirana na objektivnim mikrobiološkim parametrima, njegova glavna mana je što uzima u obzir samo mikrobiološki status finalnih trupova i ne uključuje bilo kakve podatke o mikrobiološkoj

kontaminiranosti životinja poslatih na klanje niti o izvorima i putevima kontaminacije trupova.

U cilju da se nadomeste ovi nedostaci postojećih sistema ocene procesne higijene u klanicama, u novije vreme je predložen modifikovani sistem za goveđe klanice, baziran na određivanju razlike između ulaznog (životinje) i izlaznog (finalni trupovi) nivoa bakterija, nazvan BOIF (*bacterial output/input factor*) (Vivas Alegre *et* Buncic, 2004). Ova razlika u stvari odražava efikasnost procesa u minimizovanju transfera mikrobiološke kontaminacije sa kože životinja na rezultirajuće trupove. U predloženom sistemu, očekuje se da klanice kod kojih je razlika između inicijalne mikrobiološke kontaminacije životinja i kontaminacije finalnih trupova veća, imaju značajno bolju performansu procesne higijene nego klanice kod kojih je ta razlika manja. U pogledu procesne higijene, klanice u prvom slučaju se mogu kategorisati kao niže-rizične, dok su klanice u drugom slučaju više-rizične. Logično, u pogledu globalne bezbednosti mesa, bilo bi optimalno da niskorizične klanice primaju-obrađuju i niskorizične i više-rizične kategorije životinja, a da više-rizične klanice ne primaju-obrađuju više-rizične kategorije životinja.

III - CILJEVI ISTRAŽIVANJA

III - 1. DANAŠNJE GLOBALNE NEDOVOLJNOSTI ILI PRAZNINE U NAUČNIM SAZNANJIMA U OBLASTI KOJOM SE BAVI OVAJ RAD

Na kraju proizvodnog procesa na klanici, bezbednost mesa – a time i javno zdravlje - može biti ugrožena zbog prisustva u mesu većeg broja hazarda, koji mogu biti biološkog (paraziti, mikroorganizmi), hemijskog (rezidue lekova i hemijskih kontaminata) i fizičkog porekla (mehaničko zagađenje). Analiza podataka iz monitoringa alimentarnih oboljenja u ljudi u EU ukazuje da su, danas, najviši rizici po bezbednost mesa od hazarda biološkog porekla, a unutar te grupe – bakterijskih hazarda (npr. *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, verotoksične *E. coli*, itd). Razumljivo, tokom istorije, naponi da se osigura bezbednost mesa su bili usmeravani na one hazarde koji su smatrani za najznačajnije po zdravlje ljudi u datom vremenu. U pogledu glavnih korišćenih metodologija, razvoj sistema za osiguranje bezbednosti mesa na klanici u Evropi je, istorijski, imao tri glavne faze.

U prvoj fazi, tokom druge polovine 19. i prvih decenija 20. veka, osiguranje bezbednosti mesa je u potpunosti bilo bazirano na makroskopskoj „inspekciji mesa“ na klanici, koja je obuhvatala pregled životinja pre klanja i pregled organa i trupova nakon klanja. Takva inspekcija mesa je uspešno detektovala klasične zoonotske bolesti u zaklanih životinja i obezbeđivala isključenje njihovog mesa iz lanca hrane u cilju zaštite zdravlja potrošača. Međutim, tokom vremena, situacija sa zoonotskim agensima koji se nalaze u mesu se značajno promenila, tako da su značajne slabosti tog sistema postale očigledne, uključujući: a) klasične zoonotske bolesti su u novije vreme u Evropi iskorenjene, ili postale vrlo retke (prisutne samo u nekim regionima), ili se ne prenose na ljude putem konzumiranja mesa (već kontaktom), tako da ispitivanje njihovog prisustva u zaklanih životinja malo ili nikako doprinosi zdravstvenoj bezbednosti mesa; b) za neke zoonotske bolesti koje mogu da se detektuju pregledom mesa, stvarna osetljivost detekcije je nezadovoljavajuća; c) prisustvo bakterijskih uzročnika danas najčešćih i najvažnijih alimentarnih oboljenja ljudi nije moguće detektovati makroskopskim ispitivanjem mesa; i d) rutinska manuelna manipulacija mesa tokom post-mortalnog pregleda mesa (palpacija, zasecanje) dovodi do kros-kontaminacije (između različitih delova iste životinje, ili između različitih životinja) sa tim najvažnijim bakterijskim patogenima koji predstavljaju viši rizik po javno zdravlje nego rizik od lezija koje se detektuju palpacijom/zasecanjem – koje stoga treba izbeći gde god je moguće. Stoga, današnja inspekcija mesa na klanici može da detektuje u mesu samo neke rizike po bezbednost mesa, a najveći broj drugih značajnih rizika ne može. To znači da je samo kod nekih životinja (a ne svih) potrebna inspekcija mesa usmerena na rizike koji se njom mogu

detektovati; samo kod životinja koje se smatraju potencijalno sumnjivim na bazi njihove prethodne rizične kategorizacije. *Danas, principi i metodi identifikacije sumnjivih životinja, odnosno rizične kategorizacije životinja na klanici, nisu dovoljno razvijeni. U tu svrhu, neophodna su dalja istraživanja. Analiza dosadašnjih izveštaja u naučnoj literaturi ukazuje da određivanje proteina akutne faze (APP) potencijalno može da služi kao parametar generalnog zdravstvenog stanja životinja u klanici, stoga su takva istraživanja uključena u ovom radu.*

U drugoj fazi razvoja sistema za osiguranja bezbednosti mesa, naročito tokom druge polovine 20. veka, sve više se koristilo mikrobiološko ispitivanje mesa kao dodatni alat osiguranja njegove bezbednosti. Smatrano je da će mikrobiološko ispitivanje biti najkorisnije ako se usmeri na detekciju samih mikrobioloških patogena u mesu, koji su najznačajniji za zdravlje ljudi koji meso konzumiraju, a koji se ne mogu detektovati makroskopskom inspekcijom mesa na klanici. U principu, ovim pristupom se može dobiti veoma korisna informacija sa gledišta bezbednosti mesa, ali samo u slučaju pozitivnog nalaza. Naime, u slučaju negativnog nalaza, rezultat ne znači da je patogen zaista odsutan sa ispitivanog trupa/mesa zaklane životinje, iz nekoliko razloga: a) ispitan je samo uzorak a ne ceo trup, na čijim neuzorkovanim delovima patogen može biti prisutan; b) ispitivanje svakog trupa, uzorkovanjem njegove celine, nije praktično moguće niti je finansijski ostvarivo; i c) svaki, i najbolji, mikrobiološki metod ima granicu osetljivosti, tako da negativni rezultati znače samo „nivo patogena u uzorku nije iznad praga osetljivosti metoda“, a ne znače „patogen ne postoji u uzorku“. Pored toga, mikrobiološka ispitivanja traju dugo, a čuvanje velikog broja uzorkovanih trupova tokom vremena do dobijanja rezultata predstavlja ozbiljan tehnološki problem u klanici. Sa globalnog aspekta, ključna slabost pristupa baziranog na osiguranju bezbednosti mesa kroz mikrobiološko ispitivanje alimentarnih patogena na trupovima u klanici predstavljaju činjenice da se problemi (kontaminacija mesa) mogu uočiti tek nakon što su se javili i da se ne zna njihov tačan uzrok, što čini taj sistem reaktivnim, a ne preventivnim. *Stoga, analiza dosadašnjih saznanja objavljenih u naučnoj literaturi ukazuje da testiranje finalnih trupova u pogledu glavnih mikrobioloških patogena ima određeni značaj u sistemu osiguranja bezbednosti mesa na klanici, ali je njegova glavna uloga da se periodično proverava da li sve preventivne mere da se spreči/smanji kontaminacija mesa efikasno rade ili ne, a ne da bude sam za sebe sredstvo da se ta kontaminacija kontroliše. Međutim, danas još uvek nema dovoljno informacija o kvantitativnom odnosu između kontrolnih mera za*

sprečavanje kontaminacije i prevalenciji samih patogena na trupovima u klanici. Stoga, takva dalja istraživanja se neophodna, zbog čega su i uključena u ovom radu.

U trećoj fazi razvoja sistema za osiguranje bezbednosti mesa na klanici, tokom 1990-tih i 2000-tih godina, glavna pažnja je usmerena ne na detekciju glavnih mikrobioloških patogena na finalnim trupovima, već na korišćenje procesne higijene klanice da se postigne maksimalan nivo bezbednosti finalnih trupova. Taj pristup je u suštini i preventivan i baziran na riziku. Smatra se da što je procesna higijena lošija, viši je rizik od (direktne ili indirektne) fekalne kontaminacije mesa, a time i je i viši rizik od kontaminacije patogenima fekalnog porekla. Isto važi i u obrnutom pravcu, tako da se unapređenjem procesne higijene rizik po bezbednost mesa može da smanji. *Stoga, da bi se predvideo nivo rizika u pogledu finalnog trupa, potrebno je raspolagati objektivnom informacijom o kapacitetu procesne higijene u datoj klanici da smanji rizik od mikrobiološke kontaminacije. Međutim, analiza objavljenih naučnih informacija ukazuje da metodologija i kriterijumi za ocenu procesne higijene na klanici (opisani u današnjoj EU legislativi) nisu zadovoljavajući, i da su neophodna dalja istraživanja u cilju njihovog unapređenja i omogućavanja da se zaista koriste za stvarno ocenjivanje nivoa bezbednosti proizvedenog mesa. Stoga, takva istraživanja su uključena i u ovom radu.*

Ukupno, danas je modernizacija i unapređenje sistema osiguranja bezbednosti mesa na klanicama postalo neophodno. Glavni preduslov za to je da sistem bude baziran na procenjenom riziku po bezbednost mesa, kao i da sistem može da se prilagođava različitim nivoima rizika. Da bi se to postiglo, neophodno je da se poboljšaju postojeći i/ili razviju novi indikatori nivoa rizika po bezbednost mesa, što je i bio osnovni predmet istraživanja opisanih u ovom radu.

III - 2. RADNA HIPOTEZA

Glavni cilj istraživanja je da se potvrde ili odbace sledeće radne hipoteze:

- prosečne vrednosti haptoglobina u krvi grupa goveda i svinja mogu da ukazuju na njihovo grupno, opšte zdravstveno stanje i budu koristan indikator pri kategorizaciji životinja na različite rizične grupe, na koje može da se primenjuje postmortalni pregled mesa različitog načina/intenziteta;
- numerička ocena vizuelne čistoće goveda pre klanja može da bude jedan od indikatora nivoa rizika od mikrobiološke kontaminacije finalnih goveđih trupova;
- kvantitativni odnos između ulazne (na koži) i finalne (na mesu trupova) mikrobiote goveda i svinja može da ukazuje na nivo procesne higijene u klanicama i bude koristan indikator za kategorizaciju klanica u pogledu njihovih performansi u redukciji rizika od kontaminacije mesa najvažnijim mikrobiološkim alimentarnim patogenima;
- ukupan rizik po bezbednost mesa koji predstavljaju finalni trupovi na kraju procesa klanja i obrade životinja na klanicama se može odrediti određivanjem odnosa između nivoa rizika povezanih sa medicinskim stanjima u životinja detektovanih pre- i postmortalnim pregledom i nivoa rizika povezanih sa mikrobiološkim statusom finalnih trupova, a navedene ocene rizika mogu da doprinesu modernizaciji i optimizaciji inspekcije mesa i celokupnog sistema bezbednosti mesa.

III - 3. ZADACI RADA

Glavni zadaci istraživanja u okviru predložene doktorske teze su da se na klanicama za goveda i svinje:

1. oceni veza između nivoa haptoglobina u serumu i: a) opšteg tipa farmi sa kojih potiču; i b) nalaza tradicionalne inspekcije mesa (premortalne i postmortalne), kao i mogućnost korišćenja haptoglobina kao indikatora u rizičnoj kategorizaciji životinja (poglavlje IV-1);
2. oceni veza između numeričke ocene vizuelne čistoće kože goveda i mikrobiološkog statusa kože i finalnog trupa, kao i mogućnost korišćenja te veze u rizičnoj kategorizaciji goveda (poglavlje IV-2);
3. oceni veza između mikrobiološkog statusa kože životinja i korespondentnih finalnih trupova u klanicama, kao i mogućnost korišćenja te veze kao indikatora u rizičnoj kategorizaciji procesne higijene (poglavlje IV-3);
4. oceni i uporedi doprinos današnjih dveju glavnih strategija menadžmenta rizika po bezbednost mesa na klanici za goveda i svinje, inspekcije mesa i procesne higijene, ukupnom osiguranju bezbednosti mesa i javnom zdravlju u pogledu alimentarnih hazarda povezanih sa mesom (poglavlje IV-4).

IV - NALAZI DISERTACIJE PO ZADACIMA

**IV - 1. NIVOI HAPTOGLOBINA U GRUPAMA GOVEDA I SVINJA SA I
BEZ ABNORMALNOSTI NA INSPEKCIJI MESA**

Blagojevic B., Antic D., Ducic M., Buncic S. (2011a) A study of Haptoglobin levels in groups of cattle and pigs with and without abnormalities at meat inspection. *Foodborne Pathogens and Disease* 8 (10). *In press*

1.1 Kratak sadržaj

Ukupno 96 goveda poreklom sa 36 farmi i 97 svinja poreklom sa 5 farmi su zaklane u dve klanice za papkare i sve ove životinje su bile predmet zvaničnih procedura inspekcije mesa, kao i testiranja haptoglobina (Hp) u krvnom serumu metodom radijalne imunodufuzije. Direktna korelacija između Hp nivoa i specifičnih *post-mortem* abnormalnosti nije ustanovljena na individualnom nivou goveda/svinja. Međutim, na grupnom nivou, srednje vrednosti Hp (i goveda i svinja) su bile značajno više u životinja sa abnormalnostima nego u životinja bez abnormalnosti. Istraživanje je ukazalo da srednja Hp vrednost u grupama goveda i svinja može biti korisna kao dodatni, objektivni indikator sveukupnog statusa grupa goveda/svinja kada se analiziraju informacije iz lanca hrane kao deo *ante-mortem* inspekcije u klanicama; međutim, odnosni specifični Hp kriterijumi trenutno nedostaju. Usled velike varijabilnosti i nespecifične prirode Hp-odgovora u goveda i svinja, ustanovljavanje jedinstvene, pouzdane, granične “*cut-off*” vrednosti Hp za diferencijaciju grupa životinja za klanje na one koje predstavljaju i koje ne predstavljaju rizike za zdravlje, trenutno ne izgleda realistično. Radije, ustanovljavanje širih okvira (neprihvatljivo/marginalno/prihvatljivo) nivoa Hp u grupama životinja koji ukazuju na prihvatljivost porekla (farme) goveda/svinja više obećava. Zbog toga, šire studije u različitim uslovima su neophodne.

1.2 Uvod

Sistem tradicionalne inspekcije mesa je dizajniran da se bavi sa „klasičnim“ zoonotskim bolestima kao što su trihineloza, tuberkuloza i tenijaza (Blackmore, 1986) a ne sa trenutno najbitnijim mikrobiološkim hazardima uključujući *Salmonella*, *Campylobacter*, patogene *Yersinia* i verocitotoksične *Escherichia coli* (Berends *et al.*, 1993; Edwards *et al.*, 1997; Sorensen *et Petersen*, 1999). Posledično, izražena je zabrinutost da se aktuelna inspekcija mesa više ne može smatrati adekvatnom u zaštiti javnog zdravlja (Hathaway *et McKenzie*, 1991; Berends *et al.*, 1996; Mousing *et al.*, 1997), iako je korisna sa gledišta zaštite zdravlja i dobrobiti životinja.

Osim toga, u zaklanih životinja koje je *ante-mortem* ispitivanje kategorisalo kao zdrave, *post-mortem* pregled u proseku otkriva samo 20% svih makroskopskih lezija koje su ustvari prisutne u $\leq 1\%$ životinja (Snijders *et van Knapen*, 2002). Ove lezije su uglavnom estetske prirode i više su od značaja za zdravlje životinja nego ljudi (Berends *et al.*, 1993).

Dodatni problem može da predstavlja širenje patogena među različitim organima i trupovima posredstvom propisanih manuelnih tehnika (palpacije, incizije) koje se koriste u inspekciji mesa; patogeni koji na ovaj način unakrsno kontaminiraju meso mogu da predstavljaju veći rizik od hazarda koje sadašnja inspekcija mesa može da detektuje tim tehnikama (Berends *et al.*, 1993; Sorensen *et Petersen*, 1999; SCVPH, 2000a; SCVPH, 2003).

Obzirom na navedeno, ukazano je da inspekcija mesa treba da se unapredi/modernizuje tako da bude zasnovana na oceni rizika, i što je više moguće vizuelna (*“hands-off-meat“*) (Hathaway *et McKenzie*, 1991; Berends *et al.*, 1996; Edwards *et al.*, 1997; SCVPH, 2000a). Ovim pristupom, pažnja se usmerava na kategorizaciju životinja na „sumnjive“ (višeg rizika) i one koje „nisu sumnjive“ (nižeg rizika) pre klanja, zasnovano na informacijama iz lanca hrane, testovima pre klanja i *ante-mortem* nalazima (EFSA, 2004). Pretpostavka je da niskorizične grupe mogu da budu predmet pojednostavljenog (poželjno samo vizuelnog) postmortalnog ispitivanja koje bi sprečilo unakrsnu kontaminaciju mesa posredstvom procedura inspekcije mesa.

Proteini akutne faze (APP) predstavljaju grupu proteina u krvi čija se koncentracija menja u životinja koje su izložene nekim spoljašnjim ili unutrašnjim faktorima, poput infekcije, inflamacije, hirurške traume ili stresa (Eckersall, 2004; Murata *et al.*, 2004) i mogu predstavljati alternativni način monitoringa zdravlja životinja (Petersen, 2004) uključujući i u kontekstu inspekcije mesa (Saini *et Webert*, 1991). Haptoglobin (Hp) je protein akutne faze koji oslobađaju hepatociti nakon stimulacije citokinima kao rezultat oštećenja tkiva, inflamacije, infekcije, prisustva bakterijskih komponenti, kao i posle stresa (Murata *et al.*, 2004; Lomborg *et al.*, 2008).

Postoje generalne indikacije da Hp može biti koristan u diferencijaciji zdravih i bolesnih grupa goveda (Saini *et al.*, 1998; Tourlomoussis *et al.*, 2004; Ganheim *et al.*, 2007) i svinja (Petersen *et al.*, 2002; Pallares *et al.*, 2008) na klanju. Međutim, trenutno znanje o tome da li, na koji način, i do koje granice testiranje haptoglobina može praktično da se koristi u kontekstu modernizovane i zasnovane na riziku inspekcije mesa je ograničeno, tako da su šira istraživanja neophodna. Stoga, osnovni cilj ove studije je bio da se ocene razlike u nivoima haptoglobina među životinjama (govedima i svinjama) sa i bez promena nađenih prilikom inspekcije mesa, kao i da se proceni njihova korisnost u generalnoj diferencijaciji grupa životinja poslatih na klanje.

1.3 Materijali i metodi

1.3.1 Životinje

Predmet ove studije je bilo ukupno 96 goveda poreklom sa 36 farmi i 97 svinja sa pet farmi poslatih na klanje u dve komercijalne klanice za papkare.

1.3.2 Ante-mortem i post-mortem inspekcija životinja

Životinje su bile podvrgnute zakonski obaveznom pre- i postmortalnom ispitivanju u saradnji sa veterinarskim inspektorima u klanici. Podaci o identitetu, poreklu i transportu životinja su dobijeni iz zvaničnih veterinarskih dokumenata (pasoši, uverenja o zdravstvenom statusu).

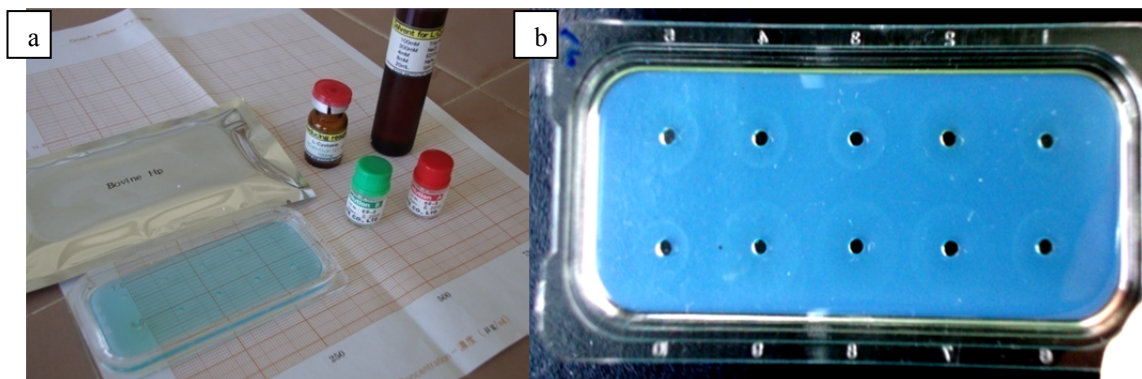
1.3.3 Uzorkovanje krvi i izdvajanje seruma

Nakon omamljivanja i za vreme iskrvarenja životinja, od svake životinje koja je bila uključena u studiju uzorci krvi su uzeti u sterilne plastične čaše zapremine približno 10 ml i odmah prebačeni u sterilne epruvete koje ne sadrže antikoagulans. Epruvete su transportovane u laboratoriju u ručnim frižiderima pri temperaturi +4°C u roku 2 sata i serum je izdvojen centrifugiranjem na 1500 g (EBA 20, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Germany).

1.3.4 Određivanje koncentracije haptoglobina u krvnom serumu goveda

Za određivanje nivoa Hp u serumu goveda su korišćeni komercijalno dostupni testovi (Slika 1) koji funkcionišu na principu jednosmerne radialne imunodifuzije (Bovine Hp; Cardiotech Services, Inc., Louisville, KY, USA). Serum (0.1 ml) je tretiran sa jednakom količinom rastvora 40 mM L-cisteina (24 mg L-cisteina rastvorenog u 5 ml rastvarača za L-cistein). Zatim je 5 µl svakog tretiranog uzorka seruma pomoću mikropipete aplikovano u posebno udubljenje na test-pločici. Za dobijanje referentnih vrednosti, u posebna udubljenja na pločici je aplikovano po 5 µl standardnih rastvora A (goveđi haptoglobin u koncentraciji 500 µg/ml) i B (goveđi haptoglobin u koncentraciji 125 µg/ml). Test-pločice su inkubirane na 37°C tokom 24 h. Nakon inkubacije, rezultati su određeni merenjem spoljašnjeg dijametra svakog precipitinskog prstena pomoću specijalnog lenjira sa tačnošću od 0.1 mm. Dijametri

precipitinskih prstenova oko udubljenja gde su aplikovani standardni rastvori (A i B) su označeni na vertikalnoj osi semilogaritamskog milimetarskog papira, dok su standardne koncentracije (500 $\mu\text{g/ml}$ i 125 $\mu\text{g/ml}$) označene na horizontalnoj osi. Na osnovu dobijenih standardnih tačaka dobijena je referentna linija pomoću koje je dalje na osnovu dijametara prstenova oko udubljenja gde su aplikovani pojedinačni uzorci seruma određivana koncentracija Hp u tim serumima. Ako se precipitinski prsten nije pojavio oko udubljenja gde je aplikovan uzorak seruma jedne životinje, koncentracija Hp je bila ispod 10 $\mu\text{g/ml}$.



Slika 1 - Set za određivanje koncentracije serumskog haptoglobina (a) i upotrebljena test pločica (b)

1.3.5 Određivanje koncentracije haptoglobina u krvnom serumu svinja

Za određivanje nivoa Hp u serumu svinja su korišćeni komercijalno dostupni testovi (Slika 1) na principu jednosmerne radijalne imunodifuzije (Porcine Hp; Cardiotech Services, Inc., Louisville, KY, USA). Pomoću mikropipete, 5 μl svakog uzorka seruma je aplikovano u posebno udubljenje na test-pločici. Za dobijanje referentnih vrednosti, u posebna udubljenja na pločici je aplikovano po 5 μl standardnih rastvora A (svinjski haptoglobin u koncentraciji 1000 $\mu\text{g/ml}$) i B (svinjski haptoglobin u koncentraciji 250 $\mu\text{g/ml}$). Test-pločice su inkubirane na 37°C tokom 24 h. Nakon inkubacije, rezultati su određeni merenjem spoljašnjeg dijametra svakog precipitinskog prstena pomoću specijalnog lenjira sa tačnošću od 0.1 mm. Dijametri precipitinskih prstenova oko udubljenja gde su aplikovani standardni rastvori (A i B) su označeni na vertikalnoj osi semilogaritamskog milimetarskog papira, dok su standardne koncentracije (1000 $\mu\text{g/ml}$ i 250 $\mu\text{g/ml}$) označene na horizontalnoj osi. Na osnovu dobijenih standardnih tačaka dobijena je referentna linija pomoću koje je dalje na osnovu dijametara prstenova oko udubljenja gde su aplikovani pojedinačni uzorci seruma određivana koncentracija Hp u tim serumima. Ako je dijametar precipitinskog prstena oko udubljenja gde

je aplikovan uzorak seruma jedne životinje prevazilazio predviđenu površinu na test-pločici, koncentracija Hp je bila preko 1800 µg/ml.

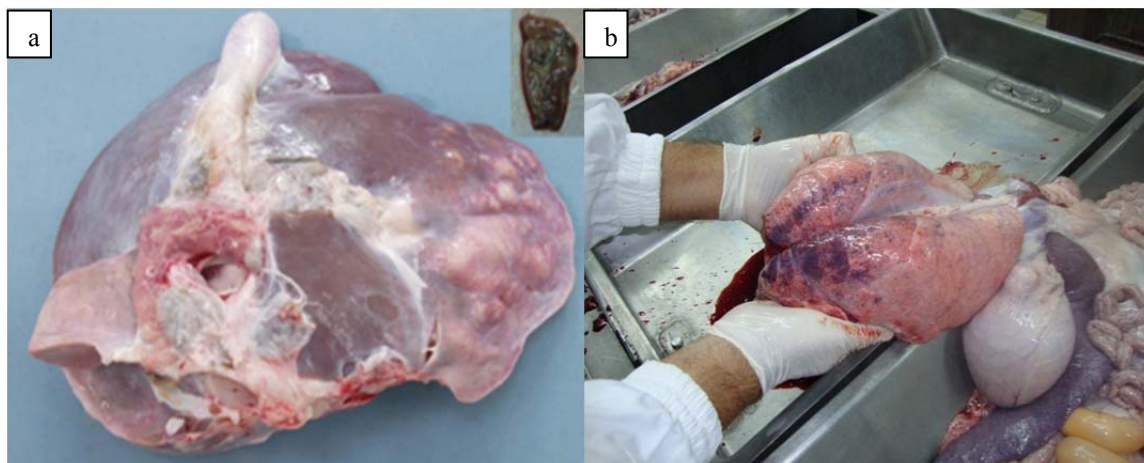
1.3.6 Analiza rezultata

Deskriptivna statistika (aritmetička sredina, standardna devijacija, minimalna i maksimalna vrednost) i *t*-test su korišćeni u oceni razlika u koncentraciji haptoglobina u različitim grupama životinja.

1.4 Rezultati

1.4.1 Pregled nalaza inspekcije mesa u zaklanih goveda i svinja

Na individualnom nivou (goveda ili svinja), kvantitativna korelacija između specifičnih promena uočenih prilikom inspekcije mesa i nivoa haptoglobina u životinja nije utvrđena. Stoga, podaci o patološkim promenama u životinja i odnosnim Hp vrednostima nisu prikazani za svaku od 193 ispitivane životinje; prikazan je generalni pregled organa u kojima su nađene promene sa najčešćim tipom promena na njima (Tabela 19). U goveda u kojih su promene detektovane u samo jednom organu, najčešće su detektovane u jetri (oko 40%; Slika 2a), zatim u plućima, u vimenu i u zglobovima (oko 10% u svakom od njih). Otprilike jedno u šest goveda je imalo promene u dva ili više organa istovremeno. S druge strane, u zaklanih svinja, promene su nalažene u manje različitih organa. Promene u plućima (najčešće zapaljenje; Slika 2b) su uočene u 3 od 4 svinje sa promenama; ostali organi su retko imali promene. Otprilike 1 od 6 svinja je imala istovremeno dve ili više organa zahvaćenih promenama.



Slika 2 - Najčešće detektovana stanja prilikom inspekcije mesa: veliki metilj u jetri goveda (a) i pneumonija svinja (b)

Tabela 19 - Organi u kojima su nađene promene i tipovi promena detektovani u zaklanih goveda i svinja

Organ zahvaćen promenom (najčešće uočena stanja)	Procenat (%) goveda sa promenama (n=48)	Procenat (%) svinja sa promenama (n=56)
Pluća (pneumonija, bronhopneumonija)	12.50	75.00
Creva (enteritis, nematode)	4.17	2.58
Vime (mastitis*)	10.42	-
Jetra (parazitska stanja: metiljavost** i ehinokokoza)	41.67	3.57
Bubrezi (nefritis)	2.08	-
Genitalni organi (metritis)	4.17	-
Zglobovi (artritis)	8.33	-
Dva ili više stanja prisutnih istovremeno	16.67	17.86

*ne javlja se u svinja za klanje (samo u krmača); **ne javlja se u svinja

1.4.2 Razlike u srednjoj vrednosti Hp u zaklanih goveda na grupnom nivou

Zaklana goveda su grupisana prema tipu farme porekla (Tabela 20) i u okviru svake grupe, na osnovu nalaza inspekcije mesa, goveda su kategorisana u grupe: a) bez promena, i b) sa promenama. Varijacije u nivoima haptoglobina nisu razmatrane između individualnih farmi/gazdinstava u ovoj studiji, jer je 96 ispitivanih goveda poreklom sa čak 36 farmi - što je bila karakteristika trenutne situacije po pitanju uzgoja goveda u Srbiji. U zaklanih goveda koja potiču sa specijalizovanih farmi (Grupa I, Tabela 20), velika većina (skoro 85%) nije imala uočenih abnormalnosti prilikom inspekcije mesa i srednja vrednost haptoglobina je bila relativno niska (60,00 mg/ml). U zaklanih goveda koja potiču sa malih farmi/domaćinstava gde se često odgaja više vrsta životinja (Grupa II), oko 40% je bilo bez promena, a oko 60%

sa promenama. U okviru Grupe II, podgrupa sa promenama nađenim prilikom inspekcije mesa je imala statistički značajno viši srednji Hp nivo ($p=0.03$; 7 puta viši nivo) od podgrupe bez promena. U zaklanih goveda koja potiču sa malih farmi/domaćinstava (kao goveda u Grupi II) ali su od 1-10 dana držana kod preprodavaca (u njihovim kamionima ili objektima) (Grupa III), odsustvo i prisustvo promena su uočeni kod podjednakog broja životinja (Tabela 20), ali u okviru ove grupe, podgrupa goveda sa promenama je imala značajno viši Hp nivo nego podgrupa bez promena ($p=0.0001$; pet puta je viši nivo haptoglobina). Kada su poređena sva goveda sa i bez nađenih abnormalnosti (bez obzira na tip farme sa kog potiču i da li su držana kod preprodavaca), grupa goveda sa promenama je imala značajno viši Hp nivo ($p=0.00001$; 4.5 puta viši nivo Hp) u odnosu na grupu bez promena.

Tabela 20 - Srednja vrednost Hp u goveda sa i bez promena na inspekciji mesa

Farme	Kategorija (broj) goveda	Procenat (%) goveda	Srednja vrednost Hp ($\mu\text{g/ml}$)	SD ($\mu\text{g/mL}$)	Min/max vrednosti ($\mu\text{g/ml}$)
<i>Grupa I: goveda sa 3 specijalizovane farme</i>	Goveda (n=11) bez promena	84.62	60.00	75.27	10/200
	Goveda (n=2) sa promenama	15.38	10.00 ^b	0	NA
	Ukupno u grupi I (n=13)	100.00	52.31	71.23	10/200
<i>Grupa II: goveda sa 6 malih farmi/domaćinstava</i>	Goveda (n=9) bez promena	39.13	20.56	20.98	10/60
	Goveda (n=14) sa promenama	60.87	146.07	194.70	10/535
	Ukupno u grupi II (n=23)	100.00	96.95	162.74	10/535
<i>Grupa III: goveda sa 27 malih farmi/domaćinstava ali držana kod preprodavaca^a</i>	Goveda (n=28) bez promena	46.67	55.18	95.90	10/350
	Goveda (n=32) sa promenama	53.33	275.16	279.55	10/1550
	Ukupno u grupi III (n=60)	100.00	172.50	239.83	10/1550
Ukupno: sva goveda	Goveda (n=48) bez promena	50.00	49.79 ^d	82.27	10/350
	Goveda (n=48) sa promenama	50.00	226.46 ^e	259.93	10/1550
	Ukupno sva goveda (n=96)	100.00	138.13	211.33	10/1550

^aPreprodavac drži životinje u svojim objektima/kamionima (1-10 dana) pre isporuke klanici; ^bHp nije detektovan, limit detekcije (10 $\mu\text{g/ml}$) je korišćen u statističke svrhe; ^cUključuje i akutne i hronične forme, a u nekim slučajevima više od jednog zapaljenskog i/ili parazitskog stanja istovremeno; NA-Nije primenjivo; ^e>d ($p=0.00001$)

1.4.3 Razlike u srednjoj vrednosti Hp u zaklanih svinja na grupnom nivou

Zaklane svinje uključene u ovu studiju su poreklom sa ukupno pet specijalizovanih farmi za tov svinja i neposredno su isporučene klanici (bez prepodavaca). Udeo svinja bez nađenih promena na inspekciji se kretao u opsegu 20-67%, a sa nađenim abnormalnostima u opsegu 33-80% između farmi (Tabela 21). Sa svake farme, svinje sa promenama su imale statistički značajno višu srednju vrednost Hp (p od 0.0138 do 0.0002; razlika u nivou Hp od 1.4 do 1.7 puta) od svinja kod kojih promene nisu detektovane. Takođe, kada se sve svinje razmatrane bez obzira na njihovo poreklo, svinje sa promenama su imale značajno ($p=0.000000000000001$; 1,4 puta) viši srednji Hp nivo u odnosu na svinje bez promena.

Tabela 21 - Srednja vrednost Hp u svinja sa i bez promena na inspekciji mesa

Farme	Kategorija (broj) svinja	Procenat (%) svinja	Srednja vrednost Hp ($\mu\text{g/mL}$)	SD ($\mu\text{g/mL}$)	Min/max vrednosti ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Farma A</i>	Svinje (n=13) bez promena	46.43	800.77	303.74	350/1370
	Svinje (n=15) sa promenama	53.57	1294.67	387.00	580/>1800
	Ukupno na farmi A (n=28)	100.00	1065.36	426.12	350/>1800
<i>Farma B</i>	Svinje (n=10) bez promena	50.00	874.00	289.18	480/1370
	Svinje (n=10) sa promenama	50.00	1458.00	322.00	1050/>180
	Ukupno na farmi B (n=20)	100.00	1166.00	422.47	480/>1800
<i>Farma C</i>	Svinje (n=6) bez promena	66.67	830.00	250.44	560/1140
	Svinje (n=3) sa promenama	33.33	1386.67	353.88	990/1670
	Ukupno na farmi C (n=9)	100.00	1015.56	384.68	560/1670
<i>Farma D</i>	Svinje (n=4) bez promena	20.00	997.50	334.50	610/1380
	Svinje (n=16) sa promenama	80.00	1519.38	283.56	1000/>1800
	Ukupno na farmi D (n=20)	100.00	1415.00	356.39	610/>1800
<i>Farma E</i>	Svinje (n=8) bez promena	40.00	881.25	317.28	300/1330
	Svinje (n=12) sa promenama	60.00	1226.67	232.43	880/1610
	Ukupno na farmi E (n=20)	100.00	1088.50	313.86	300/1610
Ukupno sve svinje	Svinje (n=41) bez promena	42.27	842.93 ^a	277.66	300/1380
	Svinje (n=56) sa promenama	57.73	1389.29 ^b	314.92	500/>1800
	Ukupno sve svinje (n=97)	100.00	1158.35	403.17	300/>1800

b>a ($p=0.000000000000001$)

1.5. Diskusija

1.5.1 Nivoi Hp u grupama goveda sa i bez promena na inspekciji mesa

Podaci o nivoima haptoglobina u individualnih životinja iz dosad objavljenih studija (Conner *et al.*, 1988; Skinner *et al.*, 1991; Alsemgeest *et al.*, 1994; Young *et al.*, 1995; Saini *et al.*, 1998) i iz ove studije (nisu prikazani) ne omogućavaju uspostavljanje jasne i pouzdane granice Hp nivoa koja bi individualno razlikovala/predvidela goveda sa i bez abnormalnosti na inspekciji mesa. S jedne strane, razlog ovome može biti individualna varijabilnost, kao i nespecifična priroda Hp odgovora. S druge strane, moguće je da neki faktor(i) uzrokuje Hp odgovor u životinja, ali da nema promena ili ih nije moguće detektovati procedurama inspekcije mesa. Zbog navedenih mogućih problema, u jednoj objavljenoj studiji je predloženo da se srednja vrednost Hp ne koristi kao indikator prisustva ili odsustva abnormalnosti na individualnom, već na grupnom nivou (Tourloumoussis *et al.*, 2004); to je je dodatno istraženo u ovom radu.

Kada se razmatraju srednji nivoi Hp u tri grupe goveda u odnosu na tip farme porekla (Tabela 20), uočava se da Grupa I goveda (potiču sa specijalizovanih farmi goveda) ima značajno veći udeo životinja bez abnormalnosti i značajno niži nivo Hp u odnosu na goveda koja potiču sa malih farmi/domaćinstava (Grupa II i Grupa III). Može se pretpostaviti da je mnogo bolji zdravstveni status prilikom inspekcije mesa uočena u goveda poreklom sa specijalizovanih farmi (Grupa I), posledica bolje stočarske prakse, uključujući biosigurnost i zdravstvene programe stada, u poređenju sa malim farmama (Grupe II i III); međutim, ovi faktori na farmi nisu ispitivani u ovoj studiji. Još jedan mogući faktor koji doprinosi manjoj proporciji goveda sa abnormalnostima u grupi goveda sa specijalizovanih farmi u odnosu grupe goveda sa malih farmi (Grupa II i III) je mnogo veći procenat mladih goveda u Grupi I u odnosu na dve druge grupe, gde su u većini starije životinje - često krave koje su služile u proizvodnji mleka (podaci nisu prikazani).

S druge strane, kada su u pitanju goveda koja potiču sa malih farmi/domaćinstava, niti se odnos broja goveda sa i bez promena, niti srednji nivoi Hp statistički značajno razlikuju između Grupe II (govoda se dostavljaju direktno klanici) i Grupe III (drže se kod preprodavaca pre nego što se isporuče klanici). Ovo je pomalo iznenađujuće, jer za goveda u Grupi III, dodatni transport, promena okruženja/objekta za držanje i mešanje sa nepoznatim životinjama može negativno uticati na zdravlje (Hartung, 2003; Ganheim *et al.*, 2007; Buncic *et al.*, 2009.) i/ili izazvati stres (Lomborg *et al.*, 2008). Objašnjenje za ovo uključuje dva

aspekta: prvo, neophodno je da protekne određeno vreme da bi se takvi negativni uticaji odrazili na zdravlje i da bi se to manifestovalo stanjima detektabilnim inspekcijom mesa; drugo, kvantitativni efekat stresa na nivo Hp u goveda je još uvek nejasan, jer je u nekim studijama ukazano da se nivo ovog proteina povećava (Murata *et Miyamoto*, 1993; Lomborg *et al.*, 2008), a u drugim studijama ostaje nepromenjen čak i kad su neki drugi APP povišeni (Almeeguest *et al.*, 1995; Hickey *et al.*, 2003).

Sveukupno, kada su razmatrana sva goveda, bez obzira na tip farme porekla (Tabela 20), statistički značajna korelacija je uočena između srednjeg nivoa Hp i prisustva promena detektovanih prilikom inspekcije mesa.

1.5.2 Nivoi Hp u grupama svinja sa i bez promena na inspekciji mesa

Slično situaciji sa govedima, podaci o koncentraciji haptoglobina u svinja na individualnom nivou iz objavljenih studija (Hall *et al.*, 1992; Petersen *et al.*, 2001; Knura-Deszczka *et al.*, 2002) i iz ove studije (nije prikazano) ne omogućavaju ustanovljavanje jasne i pouzdane granice za diferencijaciju/predviđanje svinja sa i bez abnormalnosti; stoga su Hp nivoi razmatrani samo na grupnom nivou. Kada su u pitanju varijacije između farmi u odnosu na abnormalnosti detektovane inspekcijom (Tabela 21). odnos svinja sa promenama naspram svinja bez promena se kretao od 2:1 („najbolja“ farma C) do 1:4 („najgora“ farma D). U poređenju sa govedima, prevalencija abnormalnosti je generalno viša u svinja, iako su tipovi nađenih promena manje raznovrsni.

Prosečne vrednosti koncentracije haptoglobina su bile relativno visoke čak i u svinja bez uočenih promena (Tabela 21), bez obzira na farmu porekla (otprilike 800-1000 µg/ml). Ovo je generalno u saglasnosti sa prethodnim studijama gde su predmet bile svinje slične starosne kategorije kao u ovoj studiji (5-6 meseci starosti), koje su se kretale od 500 µg/ml (Pallares *et al.*, 2008) do 930 µg/mL (Petersen *et al.*, 2002). Kada se posmatra svaka od farmi zasebno, srednje Hp vrednosti u svinja sa promenama su uvek bile statistički značajno više nego u svinja bez promena, ali kada je koncentracija Hp poređena među farmama (i svinje sa promenama i bez promena), nije se statički značajno razlikovala među njima. Sa druge strane, druge studije su ukazale na značajne razlike u nivou Hp među farmama; srednji nivo Hp je bio viši na farmama sa „lošijim sistemom farmskog menadžmenta“ ili sa „niskim sanitarnim statusom“ u odnosu na druge farme (Lipperheide *et al.*, 1998; Le Floc'h *et al.*, 2006). Međutim, moguće je da su se neki nepoznati faktori, ali moguće vezani za haptoglobinski odgovor životinja, razlikovali u ovoj i drugim studijama.

Ono što je najvažnije, kada se razmatraju sve ispitivane svinje bez obzira na njihovo poreklo (Tabela 21), je da se uočava statistički značajna korelacija između srednje vrednosti Hp i prisustva abnormalnosti u zaklanih svinja.

1.5.3 Potencijalne implikacije Hp rezultata za sistem inspekcije mesa

Kao što je ranije navedeno, korišćenje modernizovanog sistema inspekcije mesa sa smanjenim ili izostavljenim korišćenjem ruku od strane inspektora za što veću proporciju životinja je predloženo od strane više autora. Razlozi za ovo uključuju činjenicu da je aktuelna inspekcija mesa nedovoljno zasnovana na oceni rizika, zatim palpacije i incizije mogu da posreduju unakrsnoj kontaminaciji mikroorganizmima i ovakva inspekcija je neefikasna u detekciji danas najrelevantnijih hazarda za zdravlje ljudi, tj. najznačajnijih bakterijskih alimentarnih patogena koji ne izazivaju znake bolesti u životinja (McMahon *et al.*, 1987; Berends *et al.*, 1993; SCVPH, 2003; EFSA, 2004). Jedno od ključnih nastojanja u modernizaciji sistema inspekcije mesa je upravo usmereno ka analizi informacija iz lanca hrane (FCI) vezanih za životinje pre klanja, kako bi se donela odluka da li je moguće/potrebno primeniti jednostavnije ili detaljnije (uključujući dodatno laboratorijsko testiranje) postmortalno ispitivanje. Generalno, FCI uključuje podatke o pred-istoriji životinja (npr. zdravstveni status stada, epidemiološki podaci i prethodni nalazi inspekcije mesa životinja sa iste farme) i ima cilj da kategoriše grupe/serije životinja na niže- i više-rizične.

Rezultati ove studije su pokazali da su - na grupnom nivou - zaklane životinje (i goveda i svinje) sa abnormalnostima imale statistički značajno viši srednji nivo Hp nego životinje bez nađenih abnormalnosti. Ovo potvrđuje da grupne vrednosti Hp mogu biti korisne kao dodatni podatak u sklopu FCI, pre nego da budu samostalan indikator u rizičnoj kategorizaciji grupa/serija goveda i svinja na klanju. Iz tog razloga, ustanovljavanje odgovorajućih Hp kriterijuma je preduslov za primenu diferencijacije ovih grupa životinja na osnovu nivoa haptoglobina u praksi. Međutim, trenutno dostupni podaci ne dozvoljavaju postavljanje jedinstvene, univerzalne i pouzdane granične ("cut-off") vrednosti (ni za goveda ni za svinje) koja bi razdvojila više- i niže-rizične grupe životinja u pogledu zdravlja ljudi. Glavni razlog za to je nepovezanost između nađenih promena u zaklanih životinja i odnosnih alimentarnih rizika za ljude (Berends *et al.*, 1993; SCVPH, 2003; EFSA, 2004). Na primer, predominantni uzrok povišenog Hp u svinja su promene u plućima (pneumonija u ovoj studiji), ali mikrobiološki uzročnici (npr. *Actinobacillus pleuropneumoniae*, mikoplazme, *Pasteurella multocida*) ne predstavljaju alimentarne hazarde/rizike (Nordic Council of

Ministers, 2006). Slično, čest uzročnik pojave povišene koncentracije Hp u zaklanih goveda su promene u jetri (veliki metilj i ehinokokusne ciste u ovoj studiji) ali ovi parazitski hazardi ne predstavljaju alimentarne rizike za ljude u pogledu konzumacije mesa obolelih životinja. Umesto korišćenja Hp vrednosti kao dvoklasnog indikatora (razdvajanje prihvatljivog i neprihvatljivog), grupna srednja Hp vrednost pre može da se koristi kao troklasni indikator zasnovan na prihvatljivim/marginalnim/neprihvatljivim Hp vrednostima. Na ovaj način, srednja Hp vrednost grupe životinja može da ukazuje na generalnu prihvatljivost porekla (farme) goveda/svinja, pre nego da ukazuje da li životinje nose hazarde za javno zdravlje. Dalje, „Hp-neprihvatljiva“ grupa životinja može biti predmet dubljih/širih istraživanja da bi se: a) identifikovali uzroci; b) odredilo da li su hazardi za javno zdravlje stvarno prisutni; i c) primenile korektivne i preventivne mere na farmi porekla i/ili za vreme klanja i obrade životinja. Iz te perspektive, testiranje haptoglobina grupe životinja može da bude komponenta FCI u sistemu inspekcije mesa.

Dalje bazične studije o Hp u goveda/svinja pod različitim farmskim i klaničnim uslovima su potrebne da bi se oformile baze podataka, koje bi omogućile ustanovljavanje pomenutih klasa za grupne vrednosti Hp. Ovo bi unapredilo i učinilo objektivnijom kategorizaciju životinja za klanje zasnovanu na FCI.

1.6 Zaključak

Nije nađena direktna korelacija između Hp nivoa i specifičnih postmortalnih nalaza na individualnom nivou goveda/svinja. Međutim, na grupnom nivou, srednje Hp vrednosti (i u goveda i u svinja) su bile značajno više u životinja kod kojih su detektovane promene prilikom inspekcije mesa naspram životinja bez promena. Studija je ukazala da srednja vrednost Hp u grupama goveda i svinja može biti korisna kao dodatni, objektivni indikator opšteg statusa serija/grupa goveda i svinja prilikom analize FCI kao dela *ante-mortem* inspekcije u klanicama; međutim, odnosni Hp kriterijumi trenutno nedostaju. Dodatne bazične studije o haptoglobinu u goveda/svinja pod različitim farmskim i klaničnim uslovima su neophodne da bi se ustanovile prihvatljive/marginalne/neprihvatljive klase Hp u grupama goveda i svinja.

IV - 2. ODNOS IZMEĐU OCENE VIZUELNE ČISTOĆE GOVEDA I MIKROBIOLOŠKOG STATUSA KOŽE I OBRAĐENIH TRUPOVA

Blagojevic B., Antic D., Ducic M., Buncic S. (2011) The effects of visual cleanliness scores of cattle on microbial loads on the hides and the dressed carcasses. International Journal of Food Microbiology (Submitted)

2.1 Kratak sadržaj

Cilj ove studije je bio da ustanovi da li postoji korelacija između vizuelne čistoće kože goveda i mikrobiološkog statusa kože, sa jedne strane, i vizuelne čistoće kože i korespondentnih obrađenih trupova, s druge, u pogledu ukupnog broja bakterija (TVC), broja *Enterobacteriaceae* (EC) i prisustva *Escherichia coli* O157. U dve klanice je vizuelno ocenjena čistoća 100 goveda pre klanja (na skali od 1 do 4) i u dva uzorka uzeta brisevima korišćenjem sunđera od svake životinje : a) odmah nakon iskrvarenja a pre skidanja kože – sa približno 2000 cm² površine kože; i b) na kraju linije klanja, ali pre hlađenja, sa približno 2000 cm² korespondentnih finalnih, obrađenih trupova; su ispitani pomenuti mikroorganizmi. Rezultati su pokazali da postoji globalna korelacija između vizuelne čistoće kože i TVC i EC i na koži i na obrađenim trupovima. Međutim, srednji TVC/EC status i kože i finalnih trupova se razlikovao samo između vrlo prljavih goveda (kategorija 4) i svih drugih manje prljavih ili čistih (kategorije 1, 2 i 3), ali ne i međusobno između manje prljavih i čistih goveda (između kategorije 1, 2 i 3). Ova činjenica ukazuje na mogućnost da bi vizuelna kategorizacija goveda samo na dve osnovne kategorije – jednu koja sadrži vrlo prljave životinje (kategorija 4 u ovom radu, odnosno kategorije 4+5 u UKMHS sistemu) i drugu koja sadrži sve druge manje prljave ili čiste životinje (kategorije 1 + 2 + 3) – mogla da bude dovoljna u praktičnim uslovima. U pogledu prisustva *E. coli* O157 na koži i obrađenim trupovima, situacija je drugačija – za grupe životinja nepoznatog statusa u pogledu fekalne ekskrecije tog patogena, ne može se očekivati jasna veza između vizuelne čistoće kože i učestalosti njene kontaminacije odnosno kontaminacije trupova sa ovim patogenom.

2.2 Uvod

Tradicionalno se smatra da su glavni izvori mikrobiološke kontaminacije govedih trupova u klanici alimentarni trakt i koža goveda koja se kolju; međutim, u modernim klanicama se prolivanje sadržaja alimentarnog trakta na trup relativno retko dešava, dok je kontaminacija sa kože ključni i neizbežan događaj (Bell, 1997; Elder *et al.*, 2000; Vivas Alegre *et Buncic*, 2004; Antic *et al.*, 2010a; Blagojevic *et al.*, 2011b). Utvrđeno je da koža goveda može da nosi i do 11 log CFU/cm² aerobnih bakterija (Antic *et al.*, 2010b), kao i neke od danas najznačajnijih alimentarnih patogena poput *E. coli* O157, *Salmonella* spp. i *Campylobacter* spp., koji posledično kontaminiraju meso trupova (Bell, 1997; Sofos *et al.*,

1999; Elder *et al.*, 2000; Avery *et al.*, 2002; Reid *et al.*, 2002; Arthur *et al.*, 2004; Collis *et al.*, 2004). Stoga, redukcija kontaminacije kože doprinosi redukciji prenosa mikroorganizama sa kože na trup, odnosno poboljšava mikrobiološki status obrađenog trupa (Nou *et al.*, 2003; Bosilevac *et al.*, 2005; Antic *et al.*, 2010b; Antic *et al.*, 2011).

Opšta je pretpostavka da „prljavija“ koža vodi „prljavijem“ trupu i zbog toga se čistoća kože smatra značajnom u higijeni mesa preživara. U EU, propisi obavezuju subjekte u poslovanju hranom animalnog porekla da „životinje moraju biti čiste“ (Regulation EC 853/2004). Kategorisanje goveda pre klanja prema vizuelnoj čistoći kože se rutinski koristi u nekim zemljama poput UK, Irske, Finske i Australije (Ridell *et Korkeala*, 1993; Davies *et al.*, 2000; McEvoy *et al.*, 2000). Cilj je da se preterano prljave životinje uopšte ne šalju sa farme na klanje; ili da se njihovo klanje vrši posle klanja čistih životinja uz pojačanu procesnu higijenu i pažljiviji (sporiji) rad (Ridell *et Korkeala*, 1993; Longstreeth *et Udall*, 1997). Alternativni pristup baziran na pranju živih goveda pre klanja u praksi se pokazao kao nepraktičan i mikrobiološki neefektivan (Bell, 1997; Mies *et al.*, 2004).

Ukupno, iako se danas generalno smatra da čistoća kože utiče na mikrobiološki status trupova goveda, literaturni podaci o ključnom pitanju – da li i u kojoj meri postoji kvantitativna veza između vizuelne čistoće kože i njenog mikrobiološkog statusa (generička mikrobiota i mikrobiološki patogeni) - su ograničeni (Reid *et al.*, 2002; Nastasijevic *et al.*, 2008; Antic *et al.*, 2010a). Takođe, malo je objavljenih informacija, a i one koje postoje su često kontradiktorne, o vezi između čistoće kože i mikrobiološkog statusa obrađenih trupova goveda (Ridell *et Korkeala*, 1993; Van Donkersgoed *et al.*, 1997; McEvoy *et al.*, 2000; Gill, 2004). Stoga su, glavni ciljevi ove studije bili da se kvantitativno oceni uticaj vizuelne čistoće goveda pre klanja na: a) mikrobiološki status kože; i b) mikrobiološki status obrađenih korespondentnih trupova.

2.3 Materijali i metodi

2.3.1 Životinje i klanice

U dve komercijalne goveđe klanice (jedna sa zadovoljavajućom i druga sa nezadovoljavajućom procesnom higijenom; ranije ocenjene na osnovu EU mikrobioloških kriterijuma za procesnu higijenu) ispitano je 100 nasumično odabranih goveda (50 po klanici) tokom 5 poseta svakoj od klanica tokom proleća i leta.

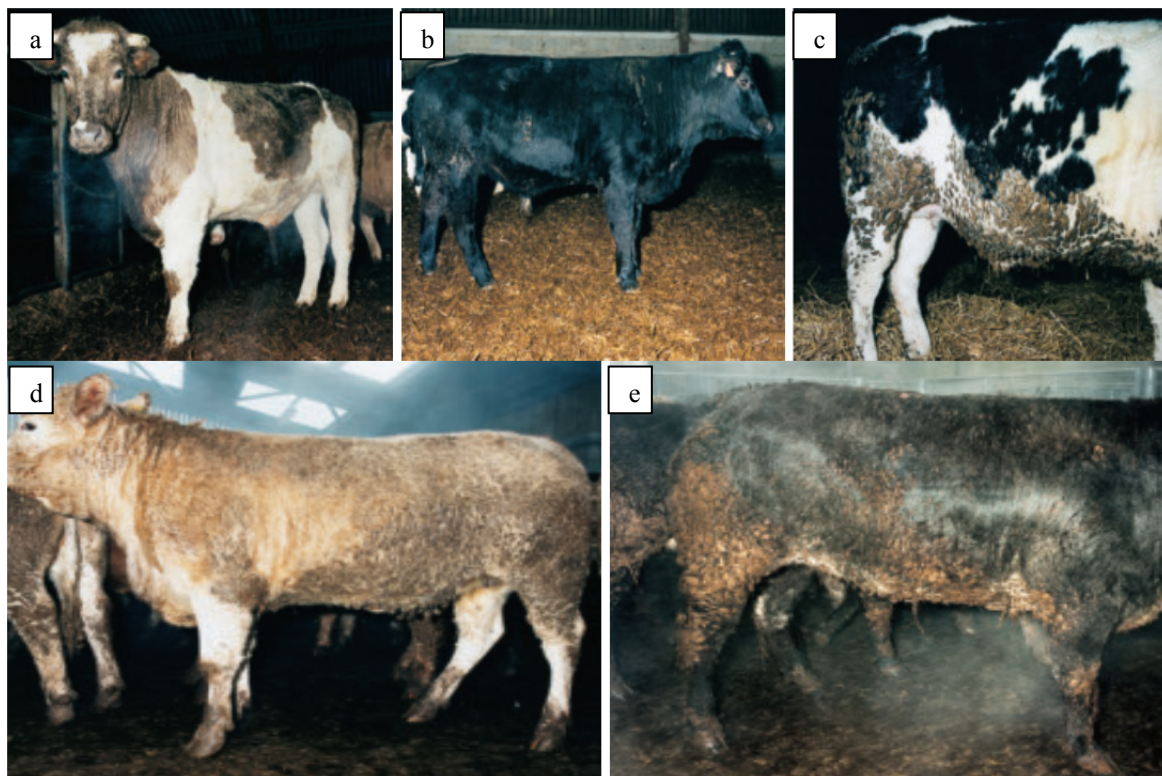
2.3.2 Ocena čistoće kože goveda

Čistoća kože svake životinje je ocenjena vizuelno, koristeći modifikovani UKMHS sistem (United Kingdom Meat Hygiene Service “*Clean Livestock Policy*”; Slika 3; FSA, 2002) originalno baziran na 5 kategorija čistoće (Tabela 22). Zbog relativno malog broja goveda u ovom radu čije kože bi pripadale (najprljavijoj) kategoriji 5 po UKMHS sistemu, rezultati za ta goveda su priključeni rezultatima goveda sa kožom UKMHS kategorije 4, tako da je modifikovani sistem korišćen u ovom radu sadržavao 4 kategorije: 1, 2, 3 (odgovaraju UKMHS kategorijama 1, 2, 3) i 4 (odgovara UKMHS kategorijama 4 + 5).

Tabela 22 - Modifikovani UKMHS sistem ocene čistoće kože goveda

Kategorija čistoće kože goveda		Opis
1 ^{*†} – čista i suva		suva koža; čista u pogledu prisustva fecesa/prljavštine; male količine labavo pričvršćene slame/prostirke
2 ^{*†} – blago prljava		suva/vlažna koža; blaga kontaminacija sa prljavštinom/fecesom; male količine labavo pričvršćene slame/prostirke
3 ^{*†} – prljava		suva/vlažna koža; značajna kontaminacija sa prljavštinom/fecesom i/ili značajne količine pričvršćene slame/prostirke
4 ^{*†} - jako prljava, suva ili vlažna	4 [*] – jako prljava	suva/vlažna koža; jako kontaminirana sa prljavštinom/fecesom; prisutne cvrste naslage i/ili značajne količine pričvršćene prostirke
	5 [*] – prljava i mokra	jako mokra koža, jako kontaminirana sa prljavštinom/fecesom i/ili mnogo cvrstih naslaga i/ili mnogo prostirke pričvršćeno za kožu

* Originalni sistem UKMHS kategorizacije; † Modifikovani sistem kategorizacije je korišćen u ovom radu



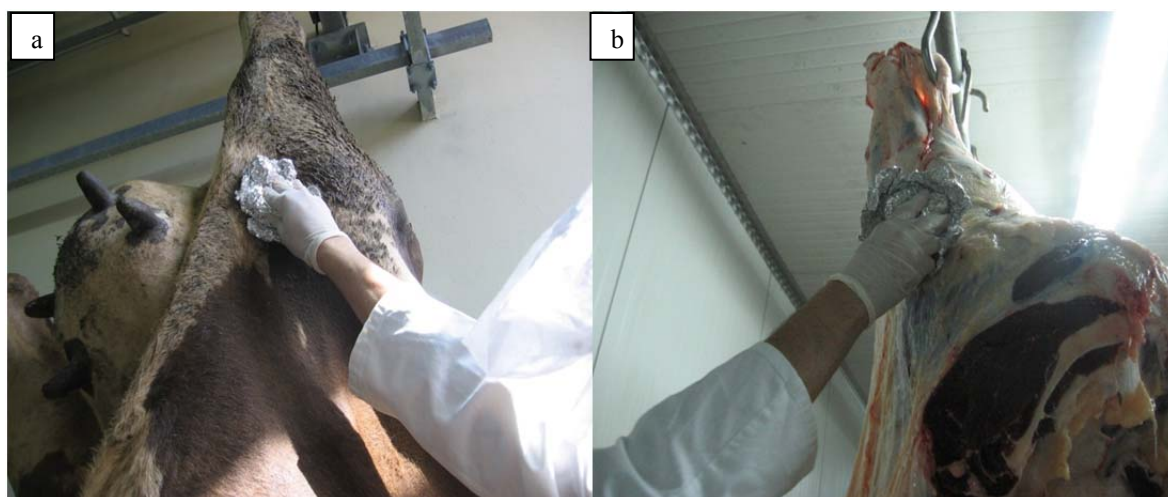
Slika 3 - Kategorije vizuelne čistoće goveda prema UKMHS sistemu ocene: kategorija 1 (a), kategorija 2 (b), kategorija 3 (c), kategorija 4 (d) i kategorija 5 (e) (FSA, 2002)

2.3.3 Uzorkovanje koža i trupova

Ravni celulozni sunđer za pranje (10 x 10 cm, 4 cm debljine) koji ne sadrže antimikrobne agense su bili izloženi UV zračenju tokom 15 minuta, a zatim umotani u aluminijumsku foliju (Slika 4a). Neposredno pre upotrebe, svaki sunđer je natopljen sa 10 ml sterilnog MRD (Maximum Recovery Diluent; Oxoid, Hampshire, UK). Od svake životinje, dva brisa su uzeta: a) nakon iskrvarenja ali pre skidanja kože, sa približno 2000 cm² površine kože (lateralna strana buta–perianalna regija–medijalna strana buta–potrbušina–grudi–vrat); i b) na kraju linije klanja ali pre hlađenja, sa približno 2000 cm² površine korespondentnog obrađenog trupa (Slika 5). Svaki sunđer je stavljen u zasebnu sterilnu stomaher kesu (Nasco, Whirl-pack, 19 x 30 cm; Fort Atkinson, WI, USA) i transportovan u ručnom frižideru na temperaturi +4°C u laboratoriju u roku od 2 sata.



Slika 4 - Aseptični celulozni sunđer korišćeni za uzorkovanje kože i trupa: pripremljeni za uzorkovanje (a), tokom uzorkovanja (b) i tokom obrade uzorka u laboratoriji (c)



Slika 5 - Uzimanje brisa kože goveda (a) i korespondentnog trupa (b)

2.3.4 Homogenizacija uzoraka

U svaku stomaher kesu sa sunđerom je dodato po 90 ml sterilnog MRD, a potom su kese spolja ručno masirane u trajanju od 1 minut da se dobiju homogenati. Iz svake kese je zatim uzet po 1 ml homogenata i pripremljene su serije decimalnih razređenja u MRD (ISO metod 6887-1:1999).

2.3.5 Određivanje ukupnog broja bakterija i broja *Enterobacteriaceae*

Za utvrđivanje ukupnog broja bakterija (TVC), iz odgovarajućih razređenja napravljenih od homogenata svakog uzorka mesa je uziman po 1 ml razređenja i pipetom prenet na

Petrifilmove za utvrđivanje TVC (Petrifilm Aerobic Count Plate, 3M Health Care, St. Paul, USA). Nakon toga su Petrifilmovi aerobno inkubirani na 30°C u toku 72 h, a zatim su sve izrasle kolonije izbrojane (AFNOR validovana metoda 3M 01/1-09/89). Za utvrđivanje broja *Enterobacteriaceae* (EC), iz odgovarajućih razređenja napravljenih od homogenata svakog uzorka mesa je uziman po 1 ml razređenja i pipetom prenet na Petrifilmove za utvrđivanje EC (Petrifilm *Enterobacteriaceae* Count Plate, 3M Health Care, St. Paul, USA). Nakon toga su Petrifilmovi aerobno inkubirani na 37°C u toku 24 h, a zatim su sve izrasle tipične kolonije izbrojane (AFNOR validovana metoda 3M 01/06 09/97; Slika 6).

2.3.6 Detekcija *Escherichia coli* O157

Iz svake kese je preneto 25 ml homogenata u 225 ml podloge za obogaćenje (mEC + novobiocin selektivni bujon; Merck, Darmstadt, Germany), koja je inkubirana na 37 °C tokom 24 h. Nakon inkubacije, bujonska kultura je testirana brzim imunohromatografskim testom (Singlepath® *E. coli* O157; Merck) na prisustvo *E. coli* O157 (Slika 7). Prema uputstvu proizvođača, ovaj brzi test je AOAC validovan, sa pragom detekcije od 1 CFU/25 g uzorka, dok su mu i osetljivost i specifičnost >99%.

2.3.7 Analiza rezultata

Vrednosti TVC i EC na kožama i trupovima su izračunate kao CFU/cm² i zatim konvertovane u log CFU/cm², dok je prisustvo *E. coli* O157 na kožama i trupovima izraženo kao prevalencija. Deskriptivna statistika: aritmetička sredina, standardna devijacija, minimalne i maksimalne vrednosti, kao i *t*-test (MS Excel 2010) su korišćeni u oceni razlika između pojedinih kategorija čistoće životinja po pitanju TVC i EC na kožama i trupovima.

2.4 Rezultati

Rezultati vizuelne čistoće kože goveda, nivoa opšte mikrobiote (TVC) i nivoa indikator organizama (EC) na koži (Tabela 23) su ukazali na postojanje uzlaznog trenda srednjeg nivoa kontaminacije kože sa TVC i EC - od najčistijih prema najprljavijim kožama. Grupa najprljavijih životinja (kategorija 4) je imala statistički značajno viši nivo TVC u odnosu na svaku od ostale tri kategorije čistoće ($p=0.000009$ do 0.03). Kategorija 3 je imala

statistički značajno viši nivo TVC u odnosu na prvu i drugu kategoriju ($p=0.00002$ i 0.00037), dok se prve dve kategorije međusobno statistički značajno nisu razlikovale ($p=0.15$). Kada je u pitanju kontaminacija kože goveda sa EC, kategorija 4 je imala statistički značajno viši nivo EC u odnosu na svaku od ostale tri kategorije čistoće ($p=0.0026$ do 0.0088), dok se prve tri kategorije međusobno nisu razlikovale ($p=0.098$ do 0.4).

Tabela 23 - Uticaj vizuelne čistoće kože goveda na ukupan broj aerobnih bakterija i broj *Enterobacteriaceae* na koži

Kategorija čistoće kože	N	Srednja vrednost TVC log CFU/cm ² ±SD (min-max)	Srednja vrednost EC log CFU/cm ² ±SD (min-max)
1	16	7.36 ^a ± 0.73 (6.29 – 8.57)	2.13 ^a ± 0.94 (0.32 – 3.52)
2	31	7.63 ^a ± 0.86 (6.16 – 9.87)	2.19 ^a ± 0.74 (0.19 – 3.74)
3	40	8.27 ^b ± 0.68 (6.77 – 10.09)	2.43 ^a ± 0.79 (0.70 – 4.91)
4	13	8.67 ^c ± 0.60 (8.04 – 10.22)	3.00 ^b ± 0.48 (2.08 – 3.89)

(^{a, b, c}) Vrednosti označene sa različitim slovima u okviru jedne kolone se statistički značajno razlikuju

Rezultati vizuelne čistoće kože goveda i nivoa TVC i EC na obrađenim korespondentnim trupovima zbirno u obe klanice (Tabela 24) su pokazali da su trupovi koji potiču od najprljavijih životinja (kategorija 4) bili i najčešće vidljivo fekalno kontaminirani (u preko 60% slučajeva) i imali statistički značajno viši nivo TVC u odnosu na svaku od ostale tri kategorije čistoće ($p=0.000068$ do 0.00176), dok se kategorije 1, 2 i 3 međusobno nisu razlikovale statistički ($p=0.065$ do 0.45). Takođe, trupovi koji su poticali od životinja iz kategorije 4 su imali statistički značajno viši nivo EC u odnosu na svaku od ostale tri kategorije čistoće ($p=0.00062$ do 0.0013), dok se kategorije 1, 2 i 3 međusobno statistički nisu razlikovale ($p=0.39$ do 0.48).

Kada se posmatra veza između vizuelne čistoće kože goveda i uklapanje korespondentnih obrađenih trupova u EU kriterijume procesne higijene za TVC (<3.5 log CFU/ cm² za prihvatljivo, 3.5-5.0 log CFU/cm² za marginalno i >5.0 log CFU/cm² za neprihvatljivo) prema Regulation EC 2073/2005 i Regulation EC 1441/2007, trupovi goveda iz kategorije 1 spadaju u prihvatljivu, dok trupovi iz ostalih kategorija spadaju u marginalnu kategoriju. S druge strane, kada se posmatra veza između vizuelne čistoće kože goveda i

uklapanje korespondentnih obrađenih trupova u kriterijume procesne higijene za EC ($<1.5 \log \text{CFU/cm}^2$ za prihvatljivo, $1.5-2.5 \log \text{CFU/cm}^2$ za marginalno i $>2.5 \log \text{CFU/cm}^2$ za neprihvatljivo), trupovi iz svih kategorija spadaju u marginalnu kategoriju (Tabela 24).

Tabela 24 - Uticaj vizuelne čistoće kože goveda na fekalnu kontaminaciju, TVC i EC na obrađenim trupovima i kriterijume procesne higijene

Kategorija čistoće kože	N	Broj (%) vidljivo fekalno kontaminiranih trupova	Srednja vrednost TVC $\log \text{CFU/cm}^2$ $\pm \text{SD}$ (min-max)	EU PHC za obrađene trupove goveda	Srednja vrednost EC $\log \text{CFU/cm}^2$ $\pm \text{SD}$ (min-max)	EU PHC za obrađene trupove goveda
1	16	1 (6.25%)	$3.23^a \pm 0.60$ (2.56 - 4.57)	Prihvatljiva kategorija	$0.81^a \pm 0.74$ (0.02 - 3.17)	Prihvatljiva kategorija
2	31	5 (16.13%)	$3.60^a \pm 0.90$ (2.49 - 5.83)	Marginalna kategorija	$0.78^a \pm 0.63$ (-0.39 - 2.45)	Prihvatljiva kategorija
3	40	4 (10.00%)	$3.57^a \pm 0.82$ (2.20 - 5.79)	Marginalna kategorija	$0.83^a \pm 0.68$ (-0.70 - 2.81)	Prihvatljiva kategorija
4	13	8 (61.54%)	$4.36^b \pm 0.78$ (3.20 - 5.84)	Marginalna kategorija	$1.49^b \pm 0.60$ (0.49 - 2.49)	Prihvatljiva kategorija

(^{a, b}) Vrednosti označene sa različitim slovima u okviru jedne kolone se statistički značajno razlikuju

Kada se posmatra veza između vizuelne čistoće goveda i prisustva *E. coli* O157 na koži i na obrađenim trupovima, uočava se da, iako je zabeležena najviša prevalencija ovog patogena na kožama i trupovima najprljavijih životinja (kategorija 4), ne postoji linearna veza između kategorija vizuelne čistoće životinja i prisustva *E. coli* O157 bilo na koži bilo na obrađenim trupovima (Tabela 25).

Tabela 25 - Uticaj vizuelne čistoće kože goveda na prisustvo *E. coli* O157 na koži i obrađenim trupovima

Kategorija čistoće kože	N	<i>E. coli</i> O157 prevalencija na kožama (%)	<i>E. coli</i> O157 prevalencija na trupovima (%)
1	16	62.50	18.75
2	31	51.61	16.13
3	40	57.50	5.00
4	13	69.23	23.08

2.5 Diskusija

Analiza odnosa vizuelne čistoće koža goveda i prisustva opšte mikrobiote na njima je ukazala da se sa povećanjem zaprljanosti kože povećava i ukupan broj bakterija (TVC) i broj indikator mikroorganizama *Enterobacteriaceae* (EC) na njenoj površini. Međutim, samo su se srednji nivoi TVC i EC na koži grupe goveda kategorije čistoće 4 statistički značajno razlikovali od onih na koži goveda svih ostalih kategorija, dok se srednji nivoi TVC i EC nisu međusobno razlikovali između koža kategorija 1, 2 i 3. Objavljene studije o odnosu vizuelne čistoće kože goveda i nivoa ukupne mikroflore na njoj su veoma retke. Ipak, u jednoj drugoj studiji (Antic *et al.*, 2010a) nije utvrđena značajna razlika u nivoima generičke mikrobiote na kožama goveda različitih stepena zaprljanosti. Međutim, u ovoj drugoj studiji, ispitane su kože sa znatno manjeg broja goveda (40), a i znatno manja površina ($5 \times 100 \text{ cm}^2 = 500 \text{ cm}^2$) je uzorkovana sa svake kože nego u ovom radu (2000 cm^2); stoga rezultati nisu direktno upoređivi između te dve studije. U svakom slučaju, treba imati na umu i da su prljave kože koje pripadaju kategoriji 4 obično vlažne/mokre i da su za njih prilepljene velike količine organskog materijala (feces i prostirka), što predstavlja značajan mikrobiološki rizik, najmanje iz dva razloga. S jedne strane, vlažna prljavština pojačava preživljavanje i razmnožavanje bakterija, uključujući patogene, na koži (Small *et al.*, 2003). S druge, transfer bakterija sa prljave i vlažne kože je znatno lakši i intenzivniji, bilo sa kože na bris prilikom uzorkovanja brisevima (što povećava broj bakterija utvrđen u uzorcima; Antic, 2011), bilo sa kože na meso tokom skidanja kože i obrade trupova (što povećava mikrobiološku kros-kontaminaciju; Gill *et al.*, 1996; Bell, 1997).

Značaj vizuelnog statusa kože u kontekstu higijene mesa su generalno potvrdila i ispitivanja odnosa vizuelne čistoće kože goveda i prisustva opšte mikrobiote na korespondentnim obrađenim trupovima u ovom radu; u proseku, što su kože bile prljavije, obrađeni trupovi su bili kontaminiraniji - i vidljivo i mikrobiološki. Međutim, samo su se nivoi TVC i EC na trupovima koji potiču od goveda kategorije čistoće 4 statistički značajno razlikovali od TVC i EC nivoa na trupovima koji potiču od goveda svih ostalih kategorija, dok se trupovi od goveda kategorija 1, 2 i 3 nisu međusobno razlikovali u pogledu srednjih TVC i EC. Glavni nalaz ove studije, da stepen vizuelne nečistoće kože goveda pre klanja značajno utiče na stepen mikrobiološke kontaminacije korespondentnih finalnih trupova, je u generalnoj saglasnosti sa drugim objavljenim studijama koje su ukazale na tu vezu (Ridell *et al.*, 1993; McEvoy *et al.*, 2000). Sa druge strane, Van Donkersgoed *et al.* (1997) nisu

ustanovili pozitivnu korelaciju između količine nečistoće na koži goveda i nivoa bakterijske kontaminacije trupova. Ova suprotnost je verovatno posledica brojnih tehničkih razlika između navedenih istraživanja (npr. prirode nečistoće prisutne na koži, primenjenih mikrobioloških metodologija), ali i činjenice da u navedenim studijama u stvari nije ispitivan odnos između vidljive nečistoće kože i broja mikroorganizama na samoj koži – što je od ključnog značaja za to koliko će nečistoća kože uticati na mikrobiološku kontaminaciju finalnog trupa.

Analiza uticaja nečistoće kože goveda na zadovoljavanje aktuelnih EU kriterijuma procesne higijene (TVC i EC na finalnim trupovima) od strane svake od dve uključene klanice je pokazala da klanje goveda različitih kategorija vizuelne čistoće kože (čak i najprljavijih) nije imalo značajan uticaj da li će ti kriterijumi biti zadovoljeni ili ne. U stvari, ova pojava ne potvrđuje odsustvo uticaja čistoće kože na parametre procesne higijene klanica, već potvrđuje da su aktuelni EU kriterijumi za procesnu higijenu neadekvatni. Naime, ti kriterijumi ne uzimaju u obzir „ulaznu“ kontaminaciju (sa kože) već samo „odlaznu“ kontaminaciju (na trupovima) u klanici. Međutim, ranije je ukazano da se procesna higijena klanice može oceniti samo na osnovu razlike između ulazne i izlazne kontaminacije, što je principijelni parametar efektivnosti klanice da smanji mikrobiološku kontaminaciju, odnosno parametar stvarne performanse procesne higijene (Vivas Alegre *et Buncic*, 2004; EFSA, 2007e; Blagojevic *et al.*, 2011b).

U pogledu glavnog alimentarnog patogena vezanog za goveda, *E. coli* O157, njegova prevalencija i na kožama i na trupovima je bila najviša u goveda iz grupe vizuelne kategorije 4. Međutim, niti je razlika u prevalenciji tog patogena u goveda kategorije 4 bila konzistentno različita u odnosu na individualne kategorije 1, 2 i 3, niti su uočene konzistentne razlike u njegovoj prevalenciji između kategorija 1, 2 i 3. Stoga, rezultati ukazuju da se na osnovu vizuelne čistoće kože goveda ne može predvideti i njen status u pogledu prisustva *E. coli* O157, kao ni status korespondentnog trupa u pogledu ovog patogena. Ovo je u saglasnosti sa drugim studijama koje su ukazale da je prisustvo bakterijskih patogena na kožama i trupovima slučajno izabranih goveda multifaktorijalno (uključujući i da li su goveda u datoj grupi fekalni ekskretori tog patogena ili ne) i stoga generalno nepredvidivo; bilo u kontekstu čistoće životinja pre klanja (Reid *et al.*, 2002) bilo u kontekstu performansi procesne higijene klanica (Blagojevic *et al.*, 2011b). Međutim, može se pretpostaviti da je, u slučaju grupe goveda koja su pozitivni fekalni ekskretori *E. coli* O157, vizuelna čistoća kože značajan faktor koji povećava rizik od prisustva i/ili koncentracije tog patogena na finalnom trupu.

2.6 Zaključak

Rezultati ovog rada su ukazali na postojanje globalne pozitivne korelacije između vizuelne čistoće koža goveda i statusa tih koža u pogledu nivoa generičke mikrobiote (TVC, EC). Takođe, utvrđena je globalna pozitivna korelacija između vizuelne čistoće kože goveda i statusa finalnih, obrađenih korespodentnih trupova u pogledu nivoa generičke mikrobiote (TVC, EC). Međutim, TVC/EC status i kože i finalnih trupova se razlikovao samo između vrlo prljavih goveda (kategorija 4) i svih drugih manje prljavih ili čistih (kategorije 1, 2 i 3), ali ne i međusobno između manje prljavih i čistih goveda (između kategorija 1, 2 i 3). Ova činjenica ukazuje na mogućnost da bi vizuelna kategorizacija goveda samo na dve osnovne kategorije – jednu koja sadrži vrlo prljave životinje (kategorija 4 u ovom radu, odnosno kategorije 4+5 u UKMHS sistemu) i drugu koja sadrži sve druge manje prljave ili čiste životinje (kategorije 1 + 2 + 3) – mogla da bude dovoljna u praktičnim uslovima. U pogledu prisustva *E. coli* O157 na koži i obrađenim trupovima, situacija je drugačija – za grupe životinja nepoznatog statusa u pogledu fekalne ekskrecije tog patogena, ne može se očekivati jasna veza između vizuelne čistoće kože i učestalosti njene kontaminacije odnosno kontaminacije trupova sa ovim patogenom. Ipak, na globalnom nivou, rezultati ove studije su potvrdili opravdanost korišćenja vizuelne ocene čistoće goveda pre klanja u kontekstu higijene mesa.

IV - 3. ODNOS IZMEĐU MIKROFLORE TRUPA I KOŽE KAO INDIKATOR PROCESNE HIGIJENE KLANICE

Blagojevic B., Antic D., Ducic M., Buncic S. (2011) Ratio between carcass- and skin-microflora as an abattoir process hygiene indicator. Food Control 22, 186-190

3.1 Kratak sadržaj

U dve klanice, obe za goveda i svinje, uzorci su uzeti od nasumično odabranih 100 goveda i 100 svinja. Od svake životinje dva uzorka su uzeta brisevima sundera: a) odmah nakon iskrvarenja goveda odnosno omamljivanja svinja - približno 2000 cm² površine kože goveda, odnosno 1500 cm² površine kože svinja; i b) na kraju linije klanja, ali pre hlađenja, na istoj površini korespondentnih obrađenih trupova. U svakom uzorku (ukupno 400) su određeni ukupan broj bakterija (TVC) i broj *Enterobacteriaceae* (EC), kao i prevalencija *Escherichia coli* O157 (u goveda) i *Salmonella* (u svinja) i korišćeni u ocenjivanju procesne higijene u klanicama. Rezultati su pokazali da grupisanje srednjih dnevnih logaritamskih vrednosti TVC i/ili EC na finalnim trupovima u prihvatljive, marginalne ili neprihvatljive kategorije procesne higijene (prema trenutnim EU mikrobiološkim kriterijumima procesne higijene) nije omogućilo karakterizaciju svakog procesa u pogledu kapaciteta za redukciju transfera mikroorganizama sa kože na trup. Sa druge strane, određivanje odnosa srednjih vrednosti TVC i/ili EC na finalnim trupovima i korespondentnim kožama je omogućilo precizniju ocenu higijene procesa u svakoj klanici, kao i pouzdaniju diferencijaciju klanica. Međutim, prevalencija *E. coli* O157 u goveda i *Salmonella* u svinja na kožama i/ili trupovima, koja inače zavisi od raznih faktora uključujući i one na farmi/pre klanice, nije se pokazala kao vrlo korisna u karakterizaciji procesne higijene, ali je korisna za svrhe ocene ekspozicije potrošača i redukcije patogena.

3.2 Uvod

Mikrobiološki kriterijumi koje nacionalna i internacionalna tela postavljaju su često bazirani na iskustvu u proizvodnji i preradi hrane, istraživanjima i ekspertskim mišljenjima u vezi toga šta je dostižno u primeni dobre higijenske prakse sa jedne strane i šta je neophodno da se osigura bezbednost hrane sa druge strane (EFSA, 2007e).

Evropska komisija je skoro usvojila nove propise (Regulativa EC 2073/2005; Regulativa EC 1441/2007) o mikrobiološkim kriterijumima za namirnice. Ovi propisi uvode dva različita tipa kriterijuma: kriterijum bezbednosti hrane (FSC) i kriterijum procesne higijene (PHC). EU kriterijum bezbednosti hrane definiše prihvatljivost hrane koja je plasirana na tržište; ako ovaj kriterijum nije ispunjen, proizvod/serija proizvoda mora da se povuče sa tržišta. EU kriterijum procesne higijene je indikator prihvatljivog funkcionisanja

procesa proizvodnje, rukovanja i distribucije hrane zasnovanog na HACCP-u, odnosno primenjiv je na procesnom nivou. Postavlja indikativnu vrednost kontaminacije iznad koje se zahteva primena korektivnih mera; ako ovaj kriterijum nije ispunjen, proces mora da se ponovno oceni i unapredi.

Međutim, kada su PHC bazirani samo na vrednostima zadatim za proizvod koji je na kraju proizvodnog procesa, priroda PHC je ustvari slična takozvanom „kriterijumu finalnog proizvoda” (EFSA, 2007e). Drugim rečima, takav PHC ne može stvarno da napravi razliku između više ili manje higijenskog procesa proizvodnje grupisanjem u kategorije prihvatljivo, marginalno ili neprihvatljivo (tj. između procesa gde je viša ili niža razlika između inicijalne kontaminacije i finalne kontaminacije), već implicitno smatra sve proizvodne procese sa jednakom finalnom kontaminacijom kao jednako higijenske (EFSA, 2007e).

Ova slabost u oceni procesne higijene u klanicama za crveno meso je ranije prepoznat, pa je preporučena karakterizacija procesa analiziranjem mikrobiološkog statusa na multiplim fazama procesa (Gill *et Jones*, 1997; Bolton *et al.*, 2000); međutim, ovakav pristup je uključivao vrlo zahtevne planove uzorkovanja. Posledično, predložen je jednostavniji pristup za bolju karakterizaciju procesa u goveđim klanicama, mikrobiološkim poređenjem finalnih trupova sa glavnim izvorom dolazne kontaminacije - kože (Vivas Alegre *et Buncic*, 2004). Ovo je zasnovano na činjenici da je direktna fekalna kontaminacija (curenje/prolivanje sadržaja creva na meso) u modernim klanicama relativno retka, dok je kontaminacija sa kože (direktnim kontaktom kože sa mesom, ili preko ruku, alata i/ili vazduha) ključni i čest događaj (Small *et al.*, 2004; Kohmaraie *et al.*, 2005; Nastasijevic *et al.*, 2008; Antic *et al.*, 2010a, 2010b). U studiji Vivas Alegre *et Buncic* (2004), korišćenjem goveda čije su kože inokulisane marker organizmima, efikasnost procesa u redukciji dolazne kontaminacije je ocenjena određivanjem odnosa između broja marker organizama na finalnim trupovima i na koži. Međutim, nema objavljenih studija o korišćenju prirodne mikroflore kože i trupa u svrhu PHC u goveđim klanicama.

U procesu klanja i obrade svinja, uticaj mikroflore kože na mikrobiološki status finalnih trupova je manje direktan/jasan nego kada su u pitanju goveda. Ovo je uglavnom posledica promena mikrobiološkog statusa mikroflore kože koje se redovno dešavaju na nekoliko uzastopnih procesnih koraka: šurenje smanjuje broj bakterija na koži a posle toga depilacija ga povećava, zatim opaljivanje smanjuje, pa poliranje povećava i na kraju pranje ga opet smanjuje. Ipak, dokazano je da alimentarni patogeni, poput *Salmonella*, mogu da se nađu i na koži svinja koje ulaze na liniju klanja i na finalnim trupovima (Davies *et al.*, 1999) i da

kontaminacija trupa može direktno da se poveže sa kontaminacijom kože žive životinje pre omamljivanja (Rossel *et al.*, 2009). U ovoj drugoj studiji, verovatnoća da će površina trupa biti kontaminirana je bila 59% ako je kontaminirana i koža žive životinje, a 35% ako koža životinja nije bila kontaminirana pre klanja. Međutim, nema objavljenih studija o korišćenju odnosa mikroflore kože pre šurenja i korespodentnog trupa u svrhu PHC u klanicama za svinje.

Stoga, osnovni ciljevi ovog istraživanja bili su da se: a) odredi mikrobiološka veza između kože i finalnog trupa u komercijalnim klanicama za goveda i svinje; i b) razmotri mogućnost korišćenja tog odnosa kao kriterijuma procesne higijene.

3.3 Materijali i metodi

3.3.1 Životinje i klanice

U dve komercijalne klanice, svaka za klanje goveda i svinja, uzeti su uzorci (ukupno 400) sa kože i trupa od 100 nasumično odabranih goveda (50 po klanici) i 100 nasumično odabranih svinja (50 po klanici). Uzorci su od goveda uzeti tokom 5 poseta svakoj od klanica tokom proleća i leta; od svinja su uzeti tokom 3 posete svakoj od klanica tokom zime.

3.3.2 Uzorkovanje govedih koža i trupova

Ravni celulozni sunđer za pranje (10 x 10 cm, 4 cm debljine) koji ne sadrže antimikrobne agense su bili izloženi UV zračenju tokom 15 minuta, a zatim umotani u aluminijumsku foliju (Slika 4a). Neposredno pre upotrebe, svaki sunđer je natopljen sa 10 ml sterilnog MRD (Maximum Recovery Diluent; Oxoid, Hampshire, England, UK). Od svake životinje, dva brisa su uzeta: a) nakon iskrvarenja ali pre skidanja kože, približno 2000 cm² površine kože (lateralna strana buta–perianalna regija–medijalna strana buta–potrbušina–grudi–vrat); i b) na kraju linije klanja ali pre hlađenja, ista površina korespodentnog obrađenog trupa (Slika 5). Svaki sunđer je stavljen u zasebnu sterilnu stomaher kesu (Nasco, Whirl-pack, 19 x 30 cm; Fort Atkinson, WI, USA) i transportovan u ručnom frižideru na temperaturi +4°C u laboratoriju u roku od 2 sata.

3.3.3 Uzorkovanje svinjskih koža i trupova

Sunderi su pripremljeni kao što je opisano za goveda (Slika 4a). Od svake životinje, dva brisa su uzeta: a) nakon omamljivanja ali pre iskrvarenja, približno 1500 cm² površine kože (lateralna strana buta–perianalna regija–medijalna strana buta–trbuh–vilica) sa leve strane; i b) na kraju linije klanja ali pre hlađenja, jednaka površina korespodentnog obrađenog trupa sa desne strane. Svakim sunderom je rukovano kao što je opisano za goveda.

3.3.4 Homogenizacija uzoraka

U svaku stomaher kesu sa sunderom je dodato po 90 ml sterilnog MRD, a potom su kese spolja ručno masirane u trajanju od 1 minut da se dobiju homogenati. Iz svake kese je zatim uzet po 1 ml homogenata i pripremljene su serije decimalnih razređenja u MRD (ISO metoda 6887-1:1999).

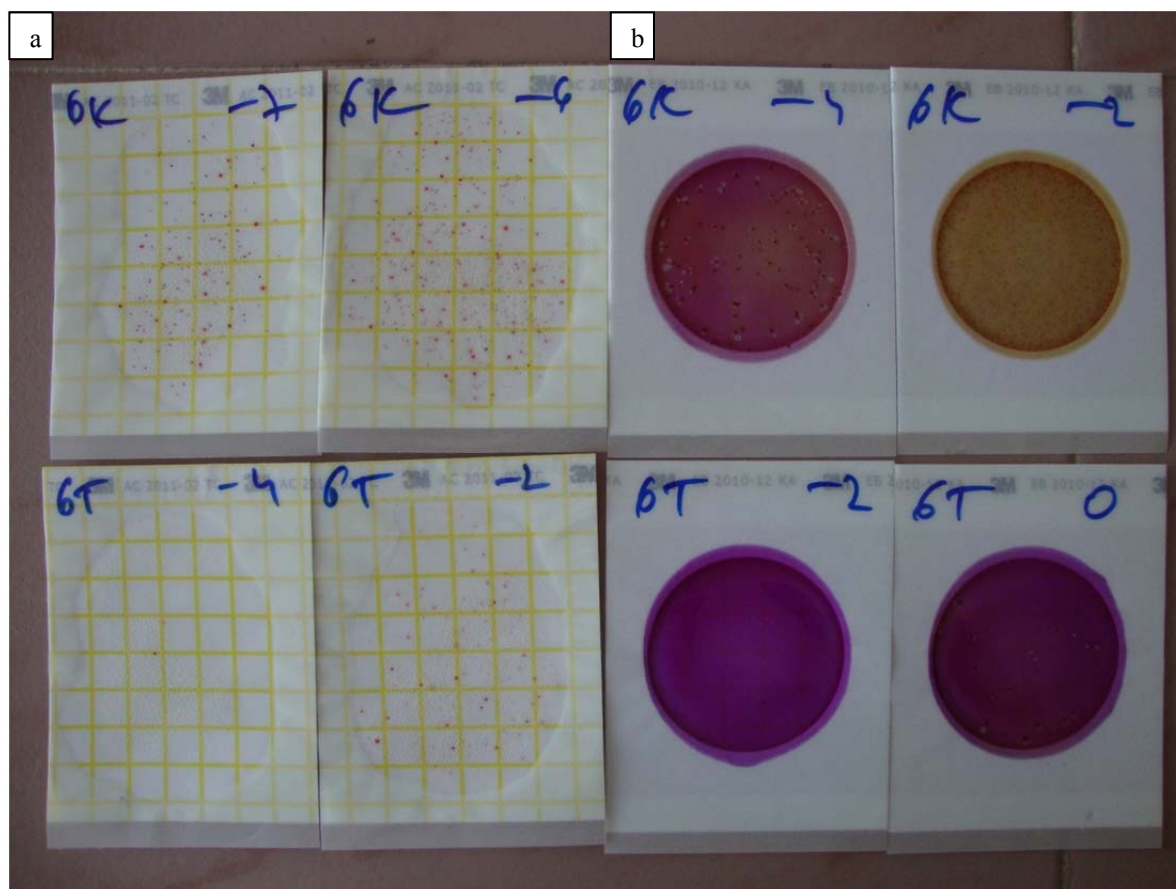
3.3.5 Određivanje ukupnog broja bakterija i broja *Enterobacteriaceae*

Za utvrđivanje ukupnog broja bakterija (TVC), iz odgovarajućih razređenja napravljenih od homogenata svakog uzorka mesa je uziman po 1 ml razređenja i pipetom prenet na Petrifilmove za utvrđivanje TVC (Petrifilm Aerobic Count Plate, 3M Health Care, St. Paul, USA). Nakon toga su Petrifilmovi inkubirani na 30°C u toku 72 h, a zatim su sve izrasle kolonije izbrojane (AFNOR validovana metoda 3M 01/1-09/89) (Slika 6a). Za utvrđivanje broja *Enterobacteriaceae* (EC), iz odgovarajućih razređenja napravljenih od homogenata svakog uzorka mesa je uziman po 1 ml razređenja i pipetom prenet na Petrifilmove za utvrđivanje EC (Petrifilm *Enterobacteriaceae* Count Plate, 3M Health Care, St. Paul, USA). Nakon toga su Petrifilmovi inkubirani na 37°C u toku 24 h, a zatim su sve izrasle tipične kolonije izbrojane (AFNOR validovana metoda 3M 01/06 09/97) (Slika 6b).

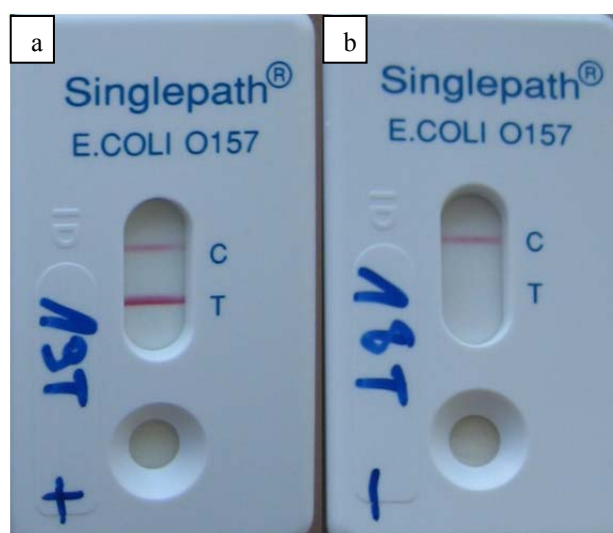
3.3.6 Detekcija *Escherichia coli* O157

Iz svake kese je preneto 25 ml homogenata u 225 ml podloge za obogaćenje (mEC + novobiocin selektivni bujon; Merck, Darmstadt, Germany), koja je inkubirana na 37 °C tokom 24 h. Nakon inkubacije, bujonska kultura je testirana brzim imunohromatografskim testom (Singlepath® *E. coli* O157; Merck) na prisustvo *E. coli* O157 (Slika 7). Prema uputstvu

proizvođača, ovaj brzi test je AOAC validovan, sa pragom detekcije od 1 CFU/25 g uzorka, dok su mu i osetljivost i specifičnost >99%.



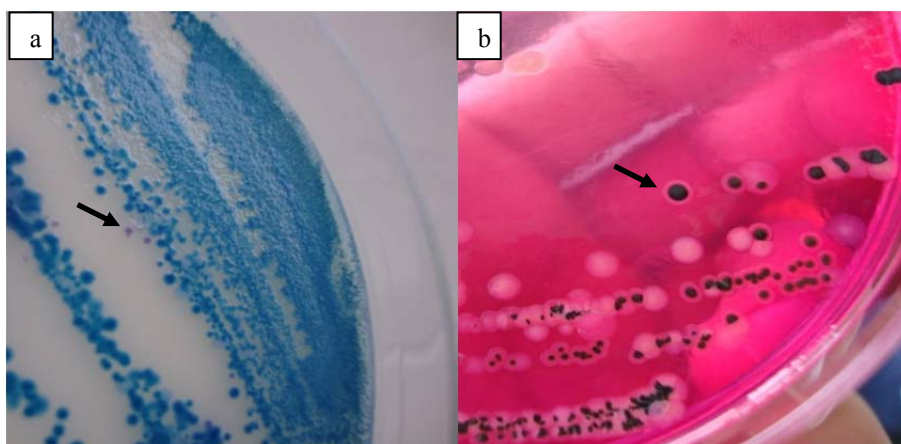
Slika 6 - Petrifilmovi za utvrđivanje TVC (a) i EC (b)



Slika 7 - Brzi imunohromatografski test za utvrđivanje prisustva *E. coli* O157: pozitivna (a) i negativna reakcija (b)

3.3.7 Detekcija *Salmonella* spp.

Korišćen je ISO 6579:2002 metod. Ukratko, svaki uzorak je inkubiran u puferizovanoj peptonskoj vodi (BPW; Oxoid) tokom 18 sati na 37°C (faza predobogaćenja). Nakon toga, 1 ml uzorka je stavljen u 10 ml Muller Kauffmann tetrathionate-novobiocin bujona (MKTTn, Oxoid, Hampshire, England, UK) i inkubiran na 37°C tokom 24h, a 0.1 ml uzorka u 10 ml Rappaport Vassiliadis bujona sa sojom (RVS, Oxoid) i inkubiran na 41.5°C tokom 24 h (faza obogaćenja). Zatim, Petri ploče sa ksiloza lizin deoksiholat agarom (XLDA, Oxoid) i *Salmonella* hromogenim agarom (SHA, Oxoid) su inokulisane iz RVS bujona (Slika 8). Takođe, ploče sa brilijant zelenim agarom (BGA, Oxoid) i sa XLDA su inokulisane iz MKTTn bujona. Sve inokulisane ploče su inkubirane na 37°C tokom 24 h. Sumnjive kolonije (sa crnim i/ili ružičastim centrom sa XLDA, ružičaste sa BGA ili magenta boje sa SHA) su prečišćene na hranljivom agaru i potvrđene biohemijski pomoću API 20E testa (BioMerieux, France) i serološki pomoću poli-O antiseruma (Pro-Lab Diagnostics, Canada) (Slika 9).



Slika 8 - Tipične kolonije *Salmonella* spp. na SH agaru (a) i XLD agaru (b)



Slika 9 - Biohemijska (a) i serološka potvrđivanje (b) *Salmonella* spp.

3.3.8 Analiza rezultata

Na kožama i trupovima goveda i svinja, TVC i EC su računane kao CFU/cm². Formula za računanje odnosa trup vs. koža i za TVC i za EC je prikazana ispod:

$$\text{Odnos trup vs. koža} = \frac{\sqrt[n]{x_1 \cdot x_2 \cdot \dots \cdot x_n(\text{trup})}}{\sqrt[n]{x_1 \cdot x_2 \cdot \dots \cdot x_n(\text{koža})}} \cdot 100$$

gde je x TVC ili EC (CFU/cm²).

Vrednosti TVC i EC su pretvorene u CFU/cm² i korišćene u izračunavanju srednjih vrednosti i testiranju značajnosti razlika među njima (*t*-test) za svaku životinjsku vrstu i svaku klanicu. *E. coli* O157 na kožama i trupovima goveda i *Salmonella* spp. na kožama i trupovima svinja su izražene kao prevalencija.

3.4. Rezultati

3.4.1. Klanice za goveda

3.4.1.1. Mikrobiološki status kože i trupova goveda

Nivoi opšte mikroflore (TVC i EC) kože i obrađenih trupova goveda u dve klanice za goveda su prikazani u Tabeli 26. Iako se srednje vrednosti TVC na kožama nisu značajno razlikovale među klanicama, srednja vrednost TVC na obrađenim trupovima je bila manja u klanici B nego u klanici A. S druge strane, srednje vrednosti EC se nisu značajno razlikovale među klanicama - i kada su u pitanju kože i kada su u pitanju trupovi. *E. coli* O157 je bila prisutna na kožama u 52% i 64% goveda u klanicama A i B, a na 12% i 14% trupova goveda u klanicama A i B (Tabela 26). Ove prevalencije se mogu smatrati relativno visokim i, iz praktične perspektive, ne upadljivo različitim među klanicama.

Tabela 26 - Mikroflora na goveđim kožama i korespondentnim obrađenim trupovima

Mikroorganizmi	Klanica (broj testiranih životinja)	Koža	Obrađeni trup
Geometrijska sredina ukupnog broja bakterija (TVC):	A (50)	1.08×10^8 (A) ($1.65 \times 10^{10} - 1.86 \times 10^6$)	1.26×10^4 (B) ($6.92 \times 10^5 - 4.79 \times 10^2$)
CFU/cm ² (max-min)	B (50)	8.28×10^7 (A) ($3.89 \times 10^9 - 1.45 \times 10^6$)	1.42×10^3 (C) ($3.63 \times 10^4 - 1.58 \times 10^2$)
Geometrijska sredina broja	A (50)	1.97×10^2 (D) ($8.13 \times 10^4 - 0.15 \times 10^1$)	1.06×10^1 (E) ($1.48 \times 10^3 - 0.11 \times 10^1$)
<i>Enterobacteriaceae</i> : CFU/cm ² (max-min)	B (50)	2.92×10^2 (D) ($4.27 \times 10^3 - 3.02 \times 10^1$)	0.59×10^1 (E) ($3.09 \times 10^2 - 0.02 \times 10^1$)
<i>Escherichia coli</i> O157 prevalencija (%)	A (50)	52	12
	B (50)	64	14

(A, B, C, D, E) Vrednosti označene različitim slovima u okviru iste kolone se značajno razlikuju, $p < 0.05$.

3.4.1.2 Primena EU kriterijuma procesne higijene

Kada se primene EU kriterijumi procesne higijene za TVC na goveđim trupovima ($< 3.5 \log \text{CFU/cm}^2$ za prihvatljivo, $3.5-5.0 \log \text{CFU/cm}^2$ za marginalno i $> 5.0 \log \text{CFU/cm}^2$ za neprihvatljivo), klanica A spada u marginalnu, a B u prihvatljivu kategoriju; znači, nijedan od procesa u klanicama nije bio neprihvatljiv (Tabela 27). Međutim, kada se individualno posmatra svaki od 50 trupova po klanici, u klanici A 17 trupova spada u prihvatljivu, 26 trupova u marginalnu i 7 trupova u neprihvatljivu kategoriju, dok u klanici B 38 trupova spada u prihvatljivu, 12 trupova u marginalnu i nema trupova u neprihvatljivoj kategoriji. Ovo ukazuje da EU kriterijumi procesne higijene koji se odnose na TVC bazirani na dnevnoj srednjoj logaritamskoj vrednosti TVC samo delimično prave razliku između procesa u klanicama A i B, iako je proces u klanici B očigledno više higijenski, što se vidi poređenjem individualnih trupova.

Kada se primene EU kriterijumi procesne higijene za EC na goveđim trupovima ($< 1.5 \log \text{CFU/cm}^2$ za prihvatljivo, $1.5-2.5 \log \text{CFU/cm}^2$ za marginalno i $> 2.5 \log \text{CFU/cm}^2$ za neprihvatljivo), i klanica A i klanica B spadaju u prihvatljivu kategoriju (Tabela 27). Međutim, kada se individualno posmatra svaki od 50 trupova po klanici, u klanici A 38 trupova spada u prihvatljivu, 10 trupova u marginalnu i 2 trupa u neprihvatljivu kategoriju, dok u klanici B 47 trupova spada u prihvatljivu, 3 trupa u marginalnu i nema trupova u neprihvatljivoj kategoriji. Ovo ukazuje da EU kriterijumi procesne higijene koji se odnose na EC, bazirani na dnevnoj srednjoj logaritamskoj vrednosti EC ne prave razliku između procesa

u klanicama A i B (oba procesa su u prihvatljivoj kategoriji), iako je proces u klanici B očigledno više higijenski, što se vidi poređenjem individualnih trupova. Pored toga, kada se posmatra samo klanica A, postoji neslaganje u oceni procesne higijene za TVC i EC, jer je po jednom osnovu proces u marginalnoj a po drugom prihvatljivoj kategoriji.

Prevalencija *Salmonella* na obrađenim trupovima goveda, koja je uključena u EU kriterijume procesne higijene (≤ 2 pozitivnih trupova od 50), nije određivana u ovoj studiji, jer u jednoj prethodnoj studiji ove istraživačke grupe *Salmonella* nije pronađena na govedima u istom regionu u Srbiji (Antic *et al.*, 2010a).

3.4.1.3 Primena odnosa mikroflore trupa i kože kao kriterijuma procesne higijene

Srednja vrednost TVC na obrađenim trupovima goveda u klanici A je bila 0.0116% od srednje vrednosti TVC na kožama korespodentnih životinja, dok, kada je u pitanju klanica B, ova vrednost je 0.0017% (Tabela 27). Drugim rečima, klanica B je otprilike 6.8 puta uspešnja u redukciji transfera dolazne (na koži) kontaminacije na rezultirajuće trupove. Srednja vrednost EC na obrađenim trupovima goveda u klanici A je bila 5.39% od srednje vrednosti EC na kožama korespodentnih životinja, dok, kada je u pitanju klanica B, ova vrednost je 2.00% (Tabela 27). Drugim rečima, klanica B je otprilike 2.7 puta uspešnja u redukciji transfera dolazne (na koži) kontaminacije na rezultirajuće trupove. Stoga, veza između mikroflore trupa i kože i po pitanju TVC i po pitanju EC je ukazala da je proces u klanici B značajno više higijenski od procesa u klanici A. Ovo je u suprotnosti sa činjenicom da su procesi u ove dve klanice ili samo delimično različiti (u odnosu na TVC) ili se uopšte ne razlikuju (u odnosu na EC) kada se primenjuju aktuelni EU kriterijumi procesne higijene, bazirani samo na srednjim vrednostima na obrađenim trupovima.

Prevalencija *E. coli* O157 na obrađenim trupovima goveda u klanici A predstavlja oko 23% prevalencije na kožama korespodentnih životinja, dok je to u klanici B oko 22% (Tabela 27). Drugim rečima, klanica A i klanica B su na sličnom nivou redukovale transfer *E. coli* O157 sa koža na korespodentne trupove. Ovo je u suprotnosti sa nalazom vezanim za odnos TVC i EC na trupovima i kožama, koji ukazuje da je procesna higijena bolja u klanici B nego klanici A (Tabela 27).

Tabela 27 - Ocena procesne higijene u goveđim klanicama

Mikroorganizmi	Kriterijumi	Ocena procesne higijene	
		Klanica A	Klanica B
Ukupan broj bakterija (TVC)	EU kriterijumi procesne higijene za obrađene trupove goveda*	Marginalna kategorija	Prihvatljiva kategorija
	Odnos trup vs koža goveda**	0.0116%	0.0017%
Broj <i>Enterobacteriaceae</i> (EC)	EU kriterijumi procesne higijene za obrađene trupove goveda*	Prihvatljiva kategorija	Prihvatljiva kategorija
	Odnos trup vs koža goveda**	5.39%	2.00%
<i>E. coli</i> O157	EU kriterijumi procesne higijene za obrađene trupove goveda*	N/A	N/A
	Prevalencija na trupovima kao % prevalencije na koži goveda	23.1%	21.8%

N/A-Nije primenjivo; *EU kriterijumi se zasnivaju na korišćenju ekscizionog metoda uzorkovanja. Uzorkovanje brisevima je takođe dozvoljeno Regulativom 2073/2005 EC, ono se češće koristi u industriji mesa i korišćeno je u ovoj studiji, ali „faktor konverzije” između rezultata dobijenih ekscizionim i metodom brisa nije naveden u ovoj regulativi. **Formula je prikazana u delu Materijali i metodi.

3.4.2 Klanice za svinje

3.4.2.1 Mikrobiološki status kože i obrađenih trupova svinja

Nivoi opšte mikroflore (TVC i EC) na kožama i obrađenim trupovima svinja u dve klanice za svinje su prikazani u Tabeli 28. Iako je srednja vrednost TVC na kožama svinja u klanici A niža nego u klanici B, srednja vrednost TVC na obrađenim trupovima ima drugačiji trend: bila je viša u klanici A nego u B. S druge strane, iako se srednja vrednost EC na kožama ne razlikuje značajno među klanicama, bila je viša na obrađenim trupovima u klanici A u odnosu na B.

Salmonella je bila prisutna na 28% koža svinja u klanici A i na 40% koža svinja u klanici B, a na obrađenim trupovima svinja bila je prisutna u 14% slučajeva u obe klanice (Tabela 28). Ove prevalencije mogu da se smatraju relativno visokim.

Tabela 28 - Mikroflora na kožama svinja i korespondentnim obrađenim trupovima

Mikroorganizmi	Klanica (broj testiranih životinja)	Koža	Obrađeni trup
Geometrijska sredina ukupnog broja bakterija, TVC:	A (50)	9.28×10^6 (A) ($4.17 \times 10^9 - 1.54 \times 10^5$)	1.24×10^4 (C) ($7.08 \times 10^5 - 3.09 \times 10^2$)
CFU/cm ² (max-min)	B (50)	2.87×10^7 (B) ($1.54 \times 10^9 - 1.32 \times 10^5$)	1.97×10^3 (D) ($6.61 \times 10^5 - 2.29 \times 10^2$)
Geometrijska sredina broja	A (50)	7.78×10^3 (E) ($1.62 \times 10^5 - 5.37 \times 10^1$)	8.94×10^1 (F) ($1.41 \times 10^3 - 0.63 \times 10^1$)
<i>Enterobacteriaceae</i> , EC:	B (50)	4.19×10^3 (E) ($2.04 \times 10^5 - 4.68 \times 10^1$)	0.97×10^1 (G) ($9.55 \times 10^2 - 0.09 \times 10^1$)
CFU/cm ² (max-min)			
Prevalencija <i>Salmonella</i> (%)	A (50)	28	14
	B (50)	40	14

(A, B, C, D, E, F, G) Vrednosti označene različitim slovima u okviru iste kolone se značajno razlikuju, $p < 0.05$

3.4.2.2 Primena EU kriterijuma procesne higijene

Kada se primene EU kriterijumi procesne higijene za TVC na svinjskim trupovima (< 4.0 log CFU/cm² za prihvatljivo, $4.0-5.0$ log CFU/cm² za marginalno i > 5.0 log CFU/cm² za neprihvatljivo), klanica A spada u marginalnu, a B u prihvatljivu kategoriju; znači, nijedan od procesa u klanicama nije bio neprihvatljiv (Tabela 29). Međutim, kada se individualno posmatra svaki od 50 trupova po klanici, u klanici A 25 trupova spada u prihvatljivu, 19 trupova u marginalnu i 6 trupova u neprihvatljivu kategoriju, dok u klanici B 44 trupa spada u prihvatljivu, 4 trupa u marginalnu i 2 trupa u neprihvatljivu kategoriju. Ovo ukazuje da aktuelni EU kriterijumi procesne higijene koji se odnose na TVC bazirani na dnevnoj srednjoj logaritamskoj vrednosti TVC samo delimično prave razliku između procesa u klanicama A i B i da nijedan od ova dva procesa nije neprihvatljiv. Međutim, proces u klanici B je očigledno više higijenski, što se vidi poređenjem individualnih trupova.

Kada se primene EU kriterijumi procesne higijene za EC na svinjskim trupovima (< 2.0 log CFU/cm² za prihvatljivo, $2.0-3.0$ log CFU/cm² za marginalno i > 3.0 log CFU/cm² za neprihvatljivo), i klanica A i klanica B spadaju u prihvatljivu kategoriju (Tabela 29). Međutim, kada se individualno posmatra svaki od 50 trupova po klanici, u klanici A, 28 trupova spada u prihvatljivu, 16 trupova u marginalnu i 6 trupova u neprihvatljivu kategoriju, dok u klanici B 45 trupova spada u prihvatljivu, 5 trupova u marginalnu i nema trupova u neprihvatljivoj kategoriji. Ovo ukazuje da EU kriterijumi procesne higijene koji su bazirani na dnevnoj srednjoj logaritamskoj vrednosti EC na trupovima ne prave razliku između procesa u

klanicama A i B (oba procesa su u prihvatljivoj kategoriji), iako je proces u klanici B očigledno više higijenski, što se vidi poređenjem individualnih trupova. Pored toga, kada se posmatra samo klanica A, postoji neslaganje u oceni procesne higijene zasnovano na kriterijumima za TVC i EC, jer je po jednom osnovu proces u marginalnoj a po drugom prihvatljivoj kategoriji.

Prevalencija *Salmonella* na obrađenim trupovima svinja, koja je uključena u EU kriterijume procesne higijene (≤ 5 pozitivnih trupova od 50), je ukazala da je procesna higijena bila ista, odnosno neprihvatljiva u obe klanice (tj. 7 od 50 u svakoj klanici (14%); Tabela 29). Ovo je u suprotnosti sa ocenama procesne higijene u klanicama A i B na osnovu TVC i EC kriterijuma, koji nisu pokazali neprihvatljivost procesa u ove dve klanice.

3.4.2.3 Primena odnosa mikroflore trupa i kože kao kriterijuma procesne higijene

Srednja vrednost TVC na obrađenim trupovima svinja u klanici A je bila 0.134% od srednje vrednosti TVC na kožama korespodentnih životinja, dok, kada je u pitanju klanica B, ova vrednost je 0.0069% (Tabela 29). Drugim rečima, klanica B je otprilike 19.4 puta uspešnja u redukciji transfera dolazne (na koži) kontaminacije na rezultirajuće trupove. Srednja vrednost EC na obrađenim trupovima svinja u klanici A je bila 1.15% od srednje vrednosti EC na kožama korespodentnih životinja, dok, kada je u pitanju klanica B, ova vrednost je 0.23% (Tabela 29). Drugim rečima, klanica B je 5 puta uspešnja u redukciji transfera dolazne (na koži) kontaminacije na rezultirajuće trupove. Stoga, veza između mikroflore trupa i kože i po pitanju TVC i po pitanju EC je ukazala da je proces u klanici B značajno više higijenski od procesa u klanici A. Ovo je u suprotnosti sa činjenicom da su procesi u ove dve klanice ili samo delimično različiti (u odnosu na TVC) ili se uopšte ne razlikuju (u odnosu na EC), kada se primenjuju EU kriterijumi procesne higijene, bazirani samo na srednjim vrednostima na obrađenim trupovima.

Prevalencija *Salmonella* na obrađenim trupovima svinja u klanici A predstavlja 50% prevalencije na kožama korespodentnih životinja, dok je u klanici B oko 35% (Tabela 29). Drugim rečima, klanica B je nešto uspešnja u redukciji transfera dolazne (sa kože) kontaminacije sa *Salmonella* na rezultirajuće trupove. Iako to što je klanica B uspešnja od klanice A za 15% nije iz praktične perspektive značajna, ipak je u saglasnosti sa nalazima odnosa trup vs koža u pogledu i TVC i EC koji pokazuju da je proces u klanici B značajno više higijenski u odnosu na klanicu A (Tabela 29).

Tabela 29 - Ocena procesne higijene u svinjskim klanicama

Mikroorganizmi	Kriterijumi	Ocena procesne higijene	
		Klanica A	Klanica B
Ukupan broj bakterija (TVC)	EU kriterijumi procesne higijene za obrađene trupove svinja*	Marginalna kategorija	Prihvatljiva kategorija
	Odnos trup vs koža svinja**	0.134%	0.0069%
<i>Broj Enterobacteriaceae</i> (EC)	EU kriterijumi procesne higijene za obrađene trupove svinja*	Prihvatljiva kategorija	Prihvatljiva kategorija
	Odnos trup vs koža svinja**	1.15%	0.23%
<i>Salmonella</i> spp.	EU kriterijumi procesne higijene za obrađene trupove svinja*	Neprihvatljiva kategorija	Neprihvatljiva kategorija
	Prevalencija na trupovima kao % prevalencije na koži svinja	50.0%	35.0%

N/A-Nije primenjivo; *EU kriterijumi se zasnivaju na korišćenju ekscizionog metoda uzorkovanja. Uzorkovanje brisevima je takođe dozvoljeno Regulativom 2073/2005 EC, ono se češće koristi u industriji mesa i korišćeno je u ovoj studiji, ali „faktor konverzije” između rezultata dobijenih ekscizionim i metodom brisa nije naveden u ovoj regulativi. **Formula je prikazana u delu Materijali i metodi.

3.5 Diskusija

EU mikrobiološki kriterijumi procesne higijene (Regulative EC No 2073/2005, EC 1441/2007) koji se primenjuju na operacije u klanicama, u stvari predstavljaju samo očekivani rezultat procesa i stoga su suštini „kriterijumi finalnog proizvoda“. Stoga je razumljivo je da je već bilo ukazano (Bolton *et al.*, 2000; Vivas Alegre *et Buncic*, 2004; EFSA, 2007e) da takvi PHCs niti zaista karakterišu proces u jednoj klanici niti prave razliku između procesa u različitim klanicama. To znači da je aktuelne EU mikrobiološke kriterijume procesne higijene u klanicama neophodno unaprediti, ako se želi bolja higijenska karakterizacija procesa unutar i diferencijacija procesa između klanica.

Ova studija je ukazala da karakterisanje svakog procesa i razlikovanje između više ili manje higijenskih procesa u dve komercijalne klanice za goveda i svinje samo putem grupisanja u prihvatljivu, marginalnu ili neprihvatljivu kategoriju prema aktuelnim EU PHC kriterijumima baziranim na nivoima TVC i EC na finalnim trupovima nije bilo dovoljno osetljivo/efikasno. Naime, logično je da u slučaju dve klanice koje proizvode finalne trupove sa jednakim nivoima mikroorganizama, klanica koja kolje životinje sa značajno višim nivoima mikroorganizama pre klanja (tj. na koži) ustvari ima bolju performansu procesne higijene u odnosu na drugu klanicu. Nasuprot tome, kada su isti procesi u klanicama karakterisani parametrom zasnovanim na kvantitativnom odnosu između TVC/EC nivoa na

trupovima i na kožama korespodentnih životinja, efikasnost procesa u redukciji transfera dolazne (sa kože) mikroflora na obrađene trupove može da se preciznije odredi i da se više i manje higijenski procesi pouzdanije razlikuju. Sveukupno, ova studija, sprovedena pod komercijalnim uslovima industrije mesa, je potvrdila ranije nalaze koji su dobijeni pod eksperimentalnim uslovima korišćenjem inokulisanih životinja (Vivas Alegre *et Buncic*, 2004). Ipak, potencijalne prednosti i korisnost unapređenih PHCs za klanice za crveno meso, baziranih na TVC/EC odnosu trup-koža treba dodatno proveriti opsežnijim studijama, koje bi uključivale veći broj klanica sa različitim kapacitetima i tehnologijama.

U ovoj studiji, razlikovanje više ili manje higijenskih procesa samo na osnovu prevalencije patogena na obrađenim finalnim trupovima (tj. *Salmonella* u svinjskim klanicama, *E. coli* O157 u goveđim klanicama) takođe nije bilo dovoljno osetljivo/efektivno, jer se ove prevalencije patogena nisu značajno razlikovale među procesima i/ili nisu se slagale sa korespodentnim trendovima TVC/EC. Slično, odnosi trup-koža bazirani na prevalenciji *E. coli* O157 u goveđim klanicama nisu napravili razliku među klanicama, a odnosi trup-koža bazirani na prevalenciji *Salmonella* u svinjskim klanicama su samo u manjem obimu napravili tu razliku. Ovo je u saglasnosti sa stavovima nekih drugih autora, da pošto se patogeni pojavljuju na kožama/trupovima relativno retko (u poređenju sa TVC i EC) i u niskim koncentracijama, pošto su neravnomerno distribuirani, a takođe i zato što na njih ne utiče samo procesna higijena već i niz faktora pre klanice, upotreba mikrobioloških kriterijuma baziranih na patogenima za karakterizaciju procesa u klanici se ne preporučuje; umesto toga, preferira se korišćenje indikator organizama (Gill *et al.*, 1999; AMSA, 1999; Bolton *et al.*, 2000). Glavna svrha monitoringa patogena na trupovima treba da bude da omogući ocenu ekspozicije potrošača i programe redukcije patogena.

3.6. Zaključak

Aktuelni EU mikrobiološki kriterijumi procesne higijene u klanicama definišu očekivani finalni rezultat procesa, ali ne karakterišu procese niti prave razliku između njih, tako da ih je neophodno unaprediti ako se želi bolja higijenska karakterizacija i diferencijacija procesa. Ova studija je ukazala da karakterisanje svakog procesa i razlikovanje između više ili manje higijenskih procesa u dve komercijalne klanice za goveda i svinje samo putem grupisanja u prihvatljivu, marginalnu ili neprihvatljivu kategoriju prema aktuelnim EU PHC kriterijumima

baziranim na nivoima TVC i EC na finalnim trupovima nije bilo dovoljno osetljivo/efikasno. Nasuprot tome, kada su isti procesi u klanicama karakterisani parametrom zasnovanim na odnosu između TVC/EC nivoa na trupovima i na kožama korespodentnih životinja, efikasnost procesa u pogledu redukcije transfera dolazne (sa kože) mikroflora na obrađene trupove može da se preciznije odredi, a time i da se više i manje higijenski procesi pouzdanije razlikuju.

U ovoj studiji, razlikovanje više ili manje higijenskih procesa samo na osnovu prevalencije patogena na obrađenim finalnim trupovima (tj. *Salmonella* u svinjskim klanicama, *E. coli* O157 u goveđim klanicama) takođe nije bilo dovoljno osetljivo/efektivno, jer se ove prevalencije patogena nisu značajno razlikovale među procesima i/ili nisu se slagale sa korespodentnim trendovima TVC/EC. Odnosi trup-koža bazirani na prevalenciji *E. coli* O157 u goveđim klanicama nisu napravili razliku među klanicama, a odnosi trup-koža bazirani na prevalenciji *Salmonella* u svinjskim klanicama su samo u manjem obimu napravili tu razliku. Upotreba mikrobioloških kriterijuma baziranih na patogenima za karakterizaciju procesa u klanici se ne preporučuje već, umesto toga, glavna svrha monitoringa patogena na trupovima treba da bude u svrhu ocene ekspozicije potrošača i omogućavanja programa redukcije patogena.

**IV - 4. OCENA POTENCIJALNIH DOPRINOSA ZVANIČNE
INSPEKCIJE MESA I PROCESNE HIGIJENE KLANICE OSIGURANJU
BIOLOŠKE BEZBEDNOSTI MESA TRUPOVA GOVEDA I SVINJA**

Blagojevic B., Antic D., Buncic S. (2011) Assessment of potential contribution of official meat inspection and abattoir process hygiene to biological safety assurance of final beef and pork carcasses. Meat Science, *Prepared for submission*

4.1 Kratak sadržaj

U radu su upoređeni potencijalni doprinosi aktuelne inspekcije mesa i procesne higijene klanice ukupnom osiguranju biološke bezbednosti mesa. Korišćeni pristup se bazirao na kvalitativnoj oceni nivoa rizika po bezbednost mesa finalnih trupova goveda i svinja u pogledu alimentarnih bioloških hazarda koji se kontrolišu svakom od ove dve mere upravljanja rizikom. U goveđim klanicama je ocenjeno: a) od alimentarnih hazarda koji se kontrolišu procesnom higijenom, *Salmonella* i verocitotoksična *Escherichia coli* (VTEC) predstavljaju hazarde srednjeg rizika, a ostali hazardi predstavljaju nizak rizik; i b) od alimentarnih hazarda koji se kontrolišu inspekcijom mesa, *T. saginata* *cysticercus* predstavlja srednji rizik, a ostali hazardi su niskog rizika. U svinjskim klanicama je ocenjeno: a) od alimentarnih hazarda koji se kontrolišu procesnom higijenom, *Salmonella* predstavlja visok rizik, *Yersinia enterocolitica* srednji rizik, a ostali hazardi nizak rizik; i b) od alimentarnih hazarda koji se kontrolišu inspekcijom mesa svinja, *Trichinella* predstavlja srednji rizik, a ostali hazardi nizak rizik. Rezultati su jasno ukazali da je doprinos adekvatne i kontrolisane procesne higijene klanja i obrade trupova značajno veći od doprinosa zvanične aktuelne inspekcije mesa u sveukupnom osiguranju biološke bezbednosti goveđih i svinjskih trupova u klanicama. Ipak, treba imati na umu da, iako se procesnom higijenom kontroliše veći broj i to značajnijih alimentarnih hazarda nego inspekcijom mesa, pojedinačne specifične hazarde (naročito parazitske) je moguće kontrolisati samo preventivnim merama na farmi i/ili pregledom (inspekcijom) mesa. Stoga, za efektivnu sveobuhvatnu kontrolu svih hazarda na finalnim trupovima na klanici koji predstavljaju značajne rizike za javno zdravlje, neophodno je primeniti širi sistem upravljanja bezbednošću mesa („osiguranje bezbednosti mesa“) koji će na longitudinalan i integrisan način kombinovati niz preventivnih i kontrolnih mera na nivou farme i klanice.

4.2 Uvod

Na bezbednost mesa na klanici mogu negativno da utiču brojni biološki, hemijski i fizički hazardi, ali je opšte prihvaćeno da, danas, najveći rizik za zdravlje ljudi koji konzumiraju to meso predstavljaju biološki hazardi uključujući mikrobiološke (Berends *et al.*, 1993; Pointon *et al.*, 2006; Norrung *et Buncic*, 2008). Ovi biološki hazardi su uglavnom zoonotske prirode, odnosno potiču od životinja za klanje, a mogu se podeliti na dve grupe: a)

hazardi koji izazivaju makroskopski vidljive kliničke promene i/ili patološke lezije u životinja za klanje, i b) hazardi koji ne izazivaju makroskopski vidljive promene/lezije u zaklanih životinja, a nalaze se u alimentarnom traktu i/ili na koži – odakle dospevaju na meso - klinički zdravih životinja.

Hazarde iz prve grupe je moguće detektovati procedurama zvanične aktuelne premortalne i/ili postmortalne inspekcije mesa (Regulation EC No 854/2004) i stoga rizik od njih je vezan samo za životinje koje pokazuju odgovarajuće makroskopske promene/lezije. Hazarde iz druge grupe može da izlučuje bilo koja životinja, nije ih moguće detektovati makroskopskim metodima aktuelne inspekcije mesa i stoga rizik od njih je vezan za sve životinje: kako za one sa nekim nepovezanim makroskopskim promenama/lezijama tako i za one bez ikakvih promena/lezija. Prisustvo hazarda iz druge grupe je moguće detektovati samo dodatnim, najčešće laboratorijskim testiranjima (Buncic, 2006). Danas je dobro poznato da je glavni pristup kontroli (prevenciji ili redukciji) tih mikrobioloških hazarda iz druge grupe na trupovima baziran na optimizaciji higijene procesa klanja i obrade na liniji klanja (Vivas Alegre *et* Buncic, 2004; Blagojevic *et al.*, 2011b). U praksi, ovaj pristup se ostvaruje kroz implementaciju programa dobre proizvođačke/higijenske prakse (GMP/GHP) i Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) planovima na klanicama.

Ocena rizika predstavlja tehnički i naučno zasnovan proces koji se sastoji od: a) identifikacije hazarda, b) karakterizacije hazarda, c) ocene ekspozicije, i d) karakterizacije rizika (CAC, 1999). Cilj ocene rizika je da kvantitativno ili kvalitativno odredi nivo rizika koji predstavlja neki hazard ili grupa hazarda, a da se potom, u skladu sa nivoom i prirodom rizika, identifikuju strategije i mere koje mogu da se primene u procesu upravljanja rizikom, radi prevencije/redukcije rizika za zdravlje ljudi u sveukupnom procesu analize rizika (Lammerding *et* Fazil, 2000; Forsythe, 2002; FAO/WHO, 2009a).

Odnos performansi aktuelne inspekcije mesa i higijene procesa klanja i obrade životinja u kontroli alimentarnih rizika za javno zdravlje nije do danas adekvatno ocenjen. Stoga je, glavni cilj ovog rada bio da se: a) kvalitativno ocene nivoi rizika po bezbednost mesa finalnih trupova goveda i svinja koji predstavljaju alimentarni hazardi koji se kontrolišu adekvatnom procesnom higijenom klanice i alimentarni hazardi koji se kontrolišu zvaničnom aktuelnom inspekcijom mesa na klanici; i b) da se uporede potencijalni doprinosi ove dve kontrolne strategije upravljanja rizikom u ukupnom osiguranju biološke bezbednosti mesa finalnih trupova na klanici.

4.3 Materijali i metodi

4.3.1 Identifikacija hazarda

Identifikacija hazarda za zdravlje ljudi čiji su izvor goveda odnosno svinje, kao i da li određeni hazard izaziva lezije u goveda/svinja i da li se lezije mogu detektovati aktuelnom inspekcijom mesa, je sprovedeno pregledom dostupne literature.

4.3.2 Incidencija bolesti

Incidencija zabeleženih bolesti ljudi u EU koje izazivaju identifikovani hazardi je određena na osnovu poslednjih dostupnih zvaničnih podataka (za 2009. godinu; EFSA, 2011a) i ocenjena je kao: niska (<1/100000), srednja (1-10/100000) ili visoka (>10/100000).

4.3.3 Težina posledica infekcije

Težina posledica infekcije identifikovanim hazardima koji potencijalno izazivaju alimentarnu infekciju je određena na osnovu dostupne literature i preovlađujućeg ekspertskeg mišljenja. Ukupno 9 međunarodno visoko prepoznatih eksperata iz 7 zemalja (iz EU, SAD i Novog Zelanda) je dalo odgovor za svaki pojedinačni hazard identifikovan u ovom radu: da li su posledice odnosne bolesti u ljudi teške ili ne. Definicija „teških posledica“ je bila: visok mortalitet i/ili teški simptomi bolesti i/ili visoka verovatnoća pojave teških simptoma bolesti - hospitalizacije i/ili visoka verovatnoća pojave trajnih posledica. Preovlađujući (većinski) odgovor na ovo pitanje je korišćen u kvalitativnoj oceni i rangiranju rizika od svakog pojedinačnog hazarda identifikovanog u ovom radu.

4.3.4 Prevalencija hazarda na ohlađenim trupovima goveda i svinja

Prosečna prevalencija identifikovanih hazarda u/na ohlađenim trupovima goveda/svinja EU u periodu 2007-2009. godine je dobijena na osnovu EFSA „Izveštaja o monitoringu zoonoza“ (EFSA, 2011a; EFSA, 2010a; EFSA, 2009). Prevalencija hazarda je dobijena prema formuli ispod.

$$\text{Prevalencija} = \frac{\text{ukupan broj pozitivnih uzoraka u svim zemljama u tri godine}}{\text{ukupan broj testiranih uzoraka u svim zemljama u tri godine}} * 100\%$$

Prevalencija hazarda u/na ohlađenim trupovima je podeljena u kategorije: niska (<1%), srednja (1-5%) i visoka (>5%).

4.3.5 Povezanost bolesti ljudi sa izvorom infekcije (“source attribution“)

Da li je povezanost sa goveđim odnosno svinjskim mesom (“source attribution“) svake pojedinačne bolesti izazvane hazardom identifikovanim u ovom radu visoka visoka ili ne je određeno na osnovu preovlađujućeg ekspertskog mišljenja. Za hazarde u goveda, ukupno 9 međunarodno visoko prepoznatih eksperata iz 7 zemalja (iz EU, USA i Novog Zelanda; isti eksperti koji su ocenjivali i težinu posledica bolesti) je dalo odgovor za svaki pojedinačni hazard identifikovan u ovom radu: da li je “source attribution“ visok ili ne, u slučaju svinjskog odnosno goveđeg mesa. Preovlađujući (većinski) odgovor na ovo pitanje je korišćen u kvalitativnoj oceni i rangiranju rizika od svakog pojedinačnog hazarda identifikovanog u ovom radu. Za hazarde u svinja, za 3 hazarda „source attribution“ je ocenjen na isti način kao što je opisano za goveda, a za ostalih 10 hazarda je ocena “source attribution“ preuzeta iz naučnog mišljenja o rangiranju hazarda u inspekciji mesa svinja Evropske agencije za bezbednost hrane (EFSA, 2011b).

4.3.6 Karakterizacija rizika

Rizici za zdravlje ljudi od identifikovanih hazarda su kvalitativno ocenjeni (visok, srednji, nizak ili zanemarljiv) na tački završetka hlađenja trupova u klanici, kao “proxy“ za ekspoziciju ljudi, podrazumevajući da sve faze lanca mesa nakon klanice i do potrošača ostaju nepromenjene („fiksne“). Karakterizacija rizika je urađena prema algoritmima prikazanim u Grafikonima 19 i 20.

4.3.7 Poređenje performansi inspekcije mesa i procesne higijene

Performansa (aktuelne inspekcije mesa ili adekvatne procesne higijene) je u ovom radu definisana kao kapacitet kontrole rizika od potencijalno alimentarnih hazarda na ohlađenim trupovima goveda/svinja. Kvalitativno ocenjenim alimentarnim rizicima koji spadaju u kategorije nizak, srednji i visok su date numeričke vrednosti (1, 3 i 5) kako bi se lakše uporedili (semikvantitativni pristup kao forma kvalitativne ocene rizika). U kontekstu poređenja performansi inspekcije mesa i procesne higijene, performansa je predstavljala

proizvod numeričkih vrednosti ocenjenih rizika od osam odabranih najvažnijih/najčešćih potencijalno alimentarnih hazarda koje je moguće kontrolisati na jedan od ova dva načina. Pošto se broj potencijalno alimentarnih hazarda u/na životinjama i mesu njihovih trupova razlikuje između goveda i svinja, za ovaj deo analize je odabran isti broj najvažnijih/najčešćih hazarda za svaku životinjsku vrstu, u cilju bolje statističke uporedljivosti.

4.4 Rezultati

4.4.1 Identifikacija hazarda

Identifikovani biološki hazardi (najčešći/najvažniji) koji potiču od goveda i svinja u Evropi i mogu da izazovu infekciju ljudi alimentarnim putem su prikazani u Tabelama 30 i 32. Rizik za ljude od nekih hazarda je vezan za njihovo razmnožavanje i/ili unošenje u lanac mesa nakon hlađenja trupova u klanici; stoga su ti hazardi grupisani u kategoriju „nizak rizik“ i izuzeti iz daljeg razmatranja u ovom radu koji se ne bavi fazama u lancu hrane/mesa nakon hlađenja obrađenih trupova. Identifikovani biološki hazardi (najčešći/najvažniji) koji potiču od goveda i svinja u Evropi i infekciju ljudi izazivaju primarno ne-alimentarnim putem su prikazani u Tabelama 31 i 33. Pošto se ovaj rad bavi ocenom rizika usled konzumacije govedeg/svinjskog mesa, navedeni hazardi su grupisani u kategoriju „zanemarljiv rizik“ i izuzeti iz daljeg razmatranja.

Tabela 30 - Identifikovani biološki hazardi u goveda koji se potencijalno mogu preneti na ljude alimentarnim putem (mlekom i/ili mesom)

Hazard	Izaziva stanja koja su detektabilna inspekcijom mesa goveda?	Neka od korepondentnih detektabilnih stanja u goveda
<i>Sarcocystis hominis</i>	Ne	-
<i>Taenia saginata cysticercus</i>	Da	ciste u mišićima
<i>Toxoplasma gondii</i>	Ne	-
<i>Campylobacter</i> spp. (termofilni)	Ne	-
Zoonotski <i>Mycobacterium</i> spp.	Da	npr. <i>M. bovis</i> - granulomi, MAP - karakteristično zadebljanje zida creva
<i>Salmonella</i> spp.	Ne	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Ne	-
VTEC	Ne	-
<i>Bacillus anthracis</i>	Da	karakteristični znaci
<i>Leptospira</i> spp.	Da	nefritis, ikterus, mastitis
<i>Coxiella burnetii</i>	Da	mastitis
<i>Brucella</i> spp.	Da	mastitis
<i>Streptococcus</i> spp.	Da	mastitis, nefritis, artritis, hepatitis, endokarditis
<i>Clostridium botulinum</i> [#]	Ne	-
<i>Clostridium difficile</i> [#]	Ne	-
<i>Clostridium perfringens</i> [#]	Ne	-
<i>Listeria monocytogenes</i> [#]	Ne	-
<i>Staphylococcus aureus</i> [#]	Da	mastitis, nefritis, artritis

[#]Rizik je vezan za razmnožavanje i/ili unošenje hazarda u lanac mesa nakon hlađenja trupova u klanici – hazardi su grupisani u kategoriju „nizak rizik“

Tabela 31 - Identifikovani biološki hazardi u goveda koji se prenose na ljude primarno ne-alimentarnim putem

Hazard*	Detektabilan inspekcijom mesa goveda	Neka od detektabilnih stanja koja potencijalno izaziva u goveda
<i>Corynebacterium</i> spp.	Da	mastitis
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	Da	apscesi, pneumonija, mastitis, metritis
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	Da	apscesi, endokarditis, pneumonija
<i>Pasturella multocida</i>	Da	pneumonija
<i>Mannheimia haemolytica</i>	Da	pneumonija
<i>Erysipelotrix rhusiopathiae</i>	Da	artritis
<i>Fasciola hepatica</i>	Da	invazija žučnih kanala
<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	Da	invazija žučnih kanala
<i>Echinococcus</i> spp.	Da	hidatioza jetre, hidatioza pluća

*Hazard se primarno ne prenose alimentarnim putem i grupisani su u kategoriju „zanemarljiv rizik“

Tabela 32 - Identifikovani biološki hazardi u svinja koji se potencijalno mogu preneti na ljude alimentarnim putem (mlekom i/ili mesom)

Hazard	Izaziva stanja koja su detektabilna inspekcijom mesa svinja?	Neka od korespondentnih detektabilnih stanja u svinja
<i>Sarcocystis sui hominis</i>	Ne	-
<i>Taenia solium cysticercus</i>	Da	ciste u mišićima
<i>Toxoplasma gondii</i>	Ne	-
<i>Trichinella</i> spp.	Da	inkapsulirane larve u mišićima
<i>Campylobacter</i> spp. (termofilni)	Ne	-
Zoonotski <i>Mycobacterium</i> spp.	Da	granulomi
<i>Salmonella</i> spp.	Ne	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Ne	-
VTEC	Ne	-
Hepatitis E virus	Ne	-
<i>Bacillus anthracis</i>	Da	karakteristični znaci
<i>Leptospira</i> spp.	Da	nefritis, ikterus
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Da	endokarditis
<i>Clostridium botulinum</i> [#]	Ne	-
<i>Clostridium difficile</i> [#]	Ne	-
<i>Clostridium perfringens</i> [#]	Ne	-
<i>Listeria monocytogenes</i> [#]	Ne	-
<i>Staphylococcus aureus</i> [#]	Da	apscesi

[#]Rizik je vezan za razmnožavanje i/ ili unošenje hazarda u lanac mesa nakon hlađenja trupova u klanici – hazardi su grupisani u kategoriju „nizak rizik“

Tabela 33 - Identifikovani biološki hazardi u svinja koji se prenose na ljude primarno ne-alimentarnim putem

Hazard*	Detektabilan inspekcijom mesa svinja	Neka od detektabilnih stanja koja potencijalno izaziva u svinja
<i>Streptococcus suis</i>	Da	endokarditis
<i>Erysipelotrix rhusiopathiae</i>	Da	endokarditis, artritis
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	Da	apscesi, pneumonija
<i>Pasturella multocida</i>	Da	pneumonija
<i>Rhodococcus equi</i>	Da	kazeozna nekroza limfnih čvorova
<i>Ascaris suum</i>	Da	mlečne pege na jetri
<i>Echinococcus</i> spp.	Da	hidatioza jetre, hidatioza pluća

*Hazard se primarno ne prenose alimentarnim putem i grupisani su u kategoriju „zanemarljiv rizik“

4.4.2 Karakterizacija hazarda

U ovom radu, karakterizacija prethodno identifikovanih hazarda koji se potencijalno prenose na ljude alimentarnim putem i čija kontrola je moguća na nivou klanice (zaključno sa završetkom hlađenja trupova) je izvršena na osnovu poslednjih dostupnih zvaničnih podataka o incidenciji bolesti u EU (Tabela 34) i težine posledica infekcije ljudi identifikovanim potencijalno alimentarnim hazardima (Tabela 35).

Tabela 34 - Incidencija bolesti izazvanih identifikovanim potencijalno alimentarnim hazardima

Hazard	Incidencija*
<i>Sarcocystis hominis</i>	niska
<i>Sarcocystis suihominis</i>	niska
<i>Taenia saginata cysticercus</i>	niska
<i>Taenia solium cysticercus</i>	niska
<i>Toxoplasma gondii</i>	niska
<i>Trichinella</i> spp.	niska
<i>Campylobacter</i> spp. (termofilni)	visoka
<i>Mycobacterium</i> spp.	niska
<i>Salmonella</i> spp.	visoka
<i>Yersinia enterocolitica</i>	srednja
VTEC	niska
Hepatitis E virus	niska
<i>Bacillus anthracis</i>	niska
<i>Leptospira</i> spp.	niska
<i>Streptococcus pyogenes</i>	niska

*Incidencija bolesti u EU u 2009. godini (EFSA, 2011a) - niska (<1/100000), srednja (1-10/100000), visoka (>10/100000)

Tabela 35 - Težina posledica infekcije identifikovanim potencijalno alimentarnim hazardima

Hazard	Teške posledice infekcije
<i>Sarcocystis hominis</i>	ne ¹
<i>Sarcocystis suihominis</i>	ne (88%)*
<i>Taenia saginata cysticercus</i>	ne ²
<i>Taenia solium cysticercus</i>	ne (75%)*
<i>Toxoplasma gondii</i>	ne (56%)*
<i>Trichinella</i> spp.	da (78%)*
<i>Campylobacter</i> spp. (termofilni)	ne (56%)*
<i>Mycobacterium</i> spp.	da (67%)*
<i>Salmonella</i> spp.	ne (56%)*
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ne (67%)*
VTEC	da (100%)*
Hepatitis E virus	ne (78%)*
<i>Bacillus anthracis</i>	da (89%)*
<i>Leptospira</i> spp.	da (66%)*
<i>Coxiella burnetii</i>	da ³
<i>Brucella</i> spp.	da ⁴
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ne (56%)*

*Preovlađujuća ekspertska mišljenja; ¹Dubey *et al.*, 2006; ²Dubey *et al.*, 2006; ³Hajmeer et Fung, 2006; CDC, 2011a; ⁴Hajmeer et Fung, 2006; CDC, 2011b.

4.4.3 Ocena ekspozicije

Ocena ekspozicije ljudi identifikovanim hazardima koji mogu da potiču od goveda/svinja i koji mogu biti preneti na ljude alimentarnim putem je sprovedana na osnovu prevalencije hazarda na ohlađenim trupovima goveda/svinja (“proxy“ za stvarnu ekspoziciju potrošača, podrazumevajući da sve faze nakon klanice i do potrošača ostaju nepromenjene, „fiksne“) (Tabele 36 i 37) i na osnovu verovatnoće da infekcija ljudi nastaje konzumacijom govedeg/svinjskog mesa (“source attribution“) (Tabele 38 i 39).

Tabela 36 - Prevalencija bioloških hazarda na ohlađenim trupovima goveda

Hazard	Prevalencija*
<i>Sarcocystis hominis</i>	na
<i>Taenia saginata cysticercus</i>	0.19%
<i>Toxoplasma gondii</i>	7.15%
<i>Campylobacter</i> spp. (termofilni)	<0.1% [§]
Zoonotske <i>Mycobacterium</i> spp.	na
<i>Salmonella</i> spp.	0.28%
<i>Yersinia enterocolitica</i>	na
VTEC	1.33%
<i>Bacillus anthracis</i>	na
<i>Leptospira</i> spp.	na
<i>Coxiella burnetii</i>	na
<i>Brucella</i> spp.	na
<i>Streptococcus</i> spp.	na

*Prosečna prevalencija u/na ohlađenim trupovima goveda u EU u periodu 2007-2009. godine (EFSA, 2009; EFSA, 2010a; EFSA, 2011a); na – nema zvaničnih podataka (spadaju u kategoriju <0.1%); [§]pretpostavka da je nakon hlađenja trupova prevalencija niska (<0.1%);

Tabela 37 - Prevalencija bioloških hazarda na ohlađenim trupovima svinja

Hazard	Prevalencija*
<i>Sarcocystis sui hominis</i>	na
<i>Taenia solium cysticercus</i>	0.0%
<i>Toxoplasma gondii</i>	2.4%
<i>Trichinella</i> spp.	0.0004%
<i>Campylobacter</i> spp. (termofilni)	<0.1% [§]
Zoonotske <i>Mycobacterium</i> spp.	0.0004%
<i>Salmonella</i> spp.	8.3%
<i>Yersinia</i> spp. (<i>Y. enterocolitica</i>)	2.2%
VTEC	0.3%
Hepatitis E virus	na
<i>Bacillus anthracis</i>	na
<i>Leptospira</i> spp.	na
<i>Streptococcus pyogenes</i>	na

*Prosečna prevalencija u/na ohlađenim trupovima svinja u EU u periodu 2007-2009. godine (EFSA, 2009; EFSA, 2010a; EFSA, 2011a); na – nema zvaničnih podataka (spadaju u kategoriju <0.1%); [§]pretpostavka da je nakon hlađenja trupova prevalencija niska (<0.1%);

Tabela 38 - Povezanost govedeg mesa kao izvora infekcije ljudi pojedinačnim hazardima (“source attribution“)

Hazard	Visok “source attribution”
<i>Sarcocystis hominis</i>	da (56%)*
<i>Taenia saginata cysticercus</i>	da (64%)* ^{#1}
<i>Toxoplasma gondii</i>	ne (100%)*
<i>Campylobacter</i> spp. (termofilni)	ne (100%)*
<i>Mycobacterium</i> spp. (<i>M. bovis</i>)	ne (67%)*
<i>Salmonella</i> spp.	da (56%)*
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ne (100%)*
VTEC	da (100%)*
<i>Bacillus anthracis</i>	ne (56%)*
<i>Leptospira</i> spp.	ne (100%)*
<i>Coxiella burnetii</i>	ne (100%)*
<i>Brucella</i> spp.	ne (56%)*
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ne (100%)*

*preovlađujuća ekspertska mišljenja; [#]četiri eksperta su odgovorila „da“, a četiri „ne“ (jedan nije odgovorio), pa je traženo i dobijeno mišljenje od 3 domaća eksperta (koji su odgovorili „da“); ¹PAHO, 2003

Tabela 39 - Povezanost svinjskog mesa kao izvora infekcije ljudi pojedinačnim hazardima (“source attribution“)

Hazard	Visok “source attribution”
<i>Sarcocystis suihominis</i>	da [#]
<i>Taenia solium cysticercus</i>	da [#]
<i>Toxoplasma gondii</i>	ne [§] da ^{†#}
<i>Trichinella</i> spp.	da [#]
<i>Campylobacter</i> spp. (termofilni)	ne [#]
<i>Mycobacterium</i> spp. (<i>M. bovis</i>)	ne [#]
<i>Salmonella</i> spp.	da [#]
<i>Yersinia enterocolitica</i>	da [#]
VTEC	ne [#]
Hepatitis E virus	ne [#]
<i>Bacillus anthracis</i>	ne (100%)*
<i>Leptospira</i> spp.	ne (89%)*
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ne (100%)*

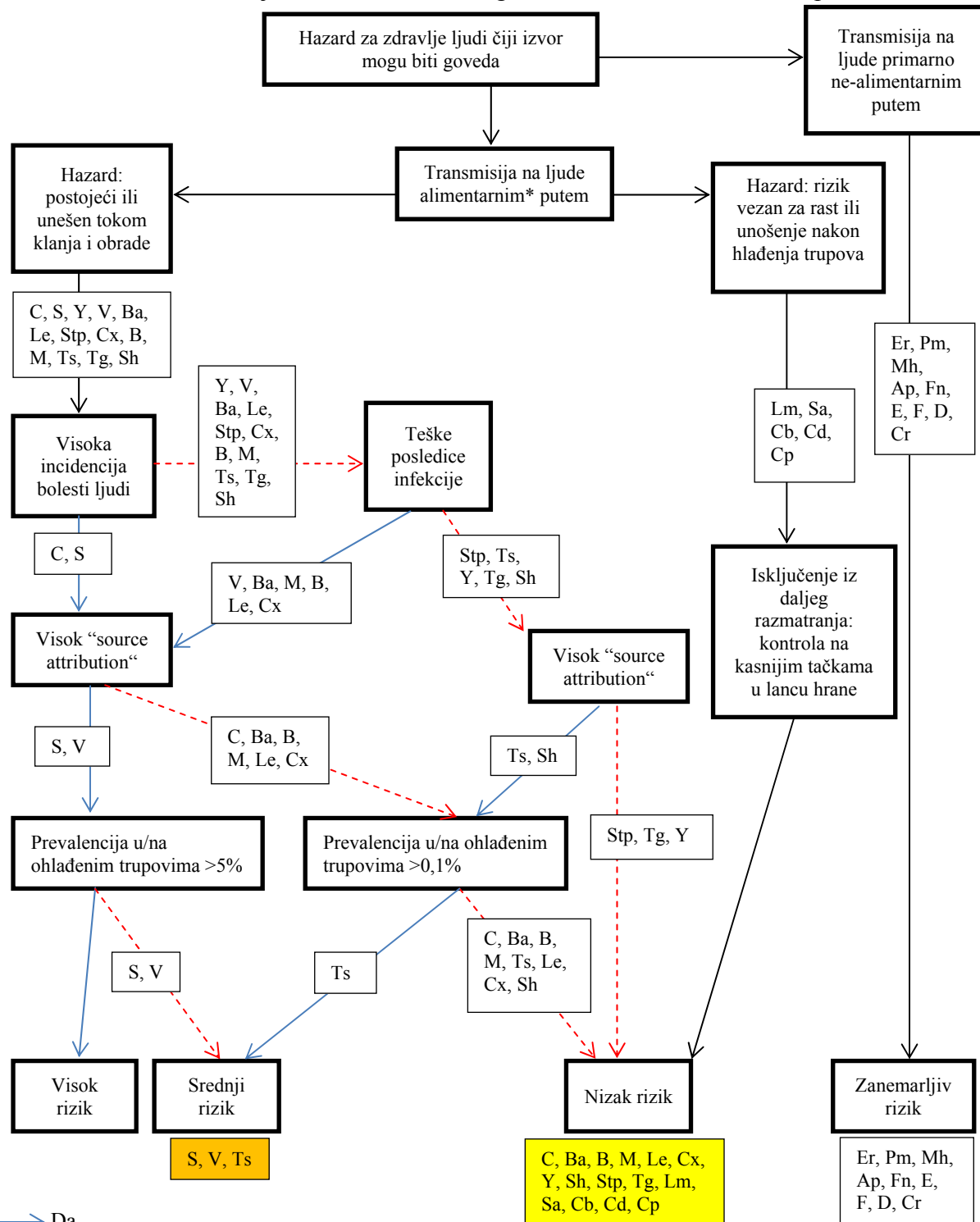
*preovlađujuća ekspertska mišljenja; [#]prema EFSA, 2011b

[§]zatvoreni sistem držanja svinja; [†]otvoreni sistem držanja svinja

4.4.4 Karakterizacija rizika

Karakterizacija rizika od identifikovanih hazarda u goveda/svinja (na nivou ohlađenih trupova) je izvršena na osnovu algoritma (Grafikoni 19 i 20).

Grafikon 19 - Karakterizacija rizika od hazarda u goveda na nivou ohlađenih trupova



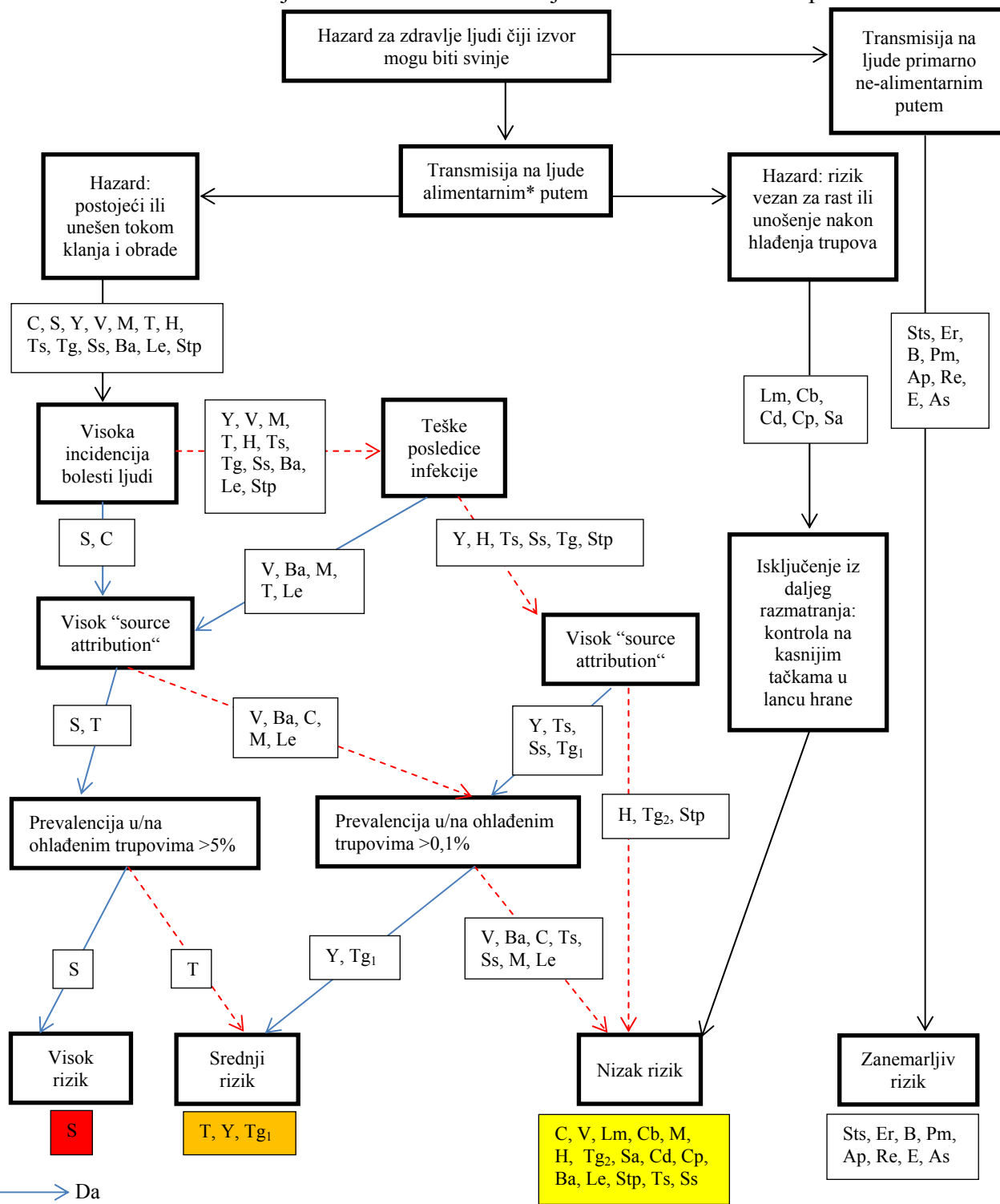
*rizik za infekciju ljudi rukovanjem, pripremanjem ili konzumacijom govedeg mesa

C – *Campylobacter* spp. (termofilni)
 S – *Salmonella* spp.
 Y – *Yersinia enterocolitica*
 V – VTEC
 Lm – *Listeria monocytogenes*
 Sa – *Staphylococcus aureus*
 Cb – *Clostridium botulinum*
 Cd – *Clostridium difficile*
 Cp – *Clostridium perfringens*

Ba – *Bacillus anthracis*
 Le – *Leptospira* spp.
 Stp – *Streptococcus* spp.
 Cx – *Coxiella burnetii*
 B – *Brucella* spp.
 M – *Mycobacterium* spp.
 Ts – *Taenia saginata cysticercus*
 Tg – *Toxoplasma gondii*
 Sh – *Sarcocystis hominis*

Er – *Erysipelotrix rhusiopathiae*
 Pm – *Pasturella multocida*
 Mh – *Mannheimia haemolytica*
 Ap – *Arcanobacterium pyogenes*
 Fn – *Fusobacterium necrophorum*
 E – *Echinococcus* spp.
 F – *Fasciola hepatica*
 D – *Dicrocoelium dendriticum*
 Cr – *Corynebacterium* spp.

Grafikon 20 - Karakterizacija rizika od hazarda u svinja na nivou ohlađenih trupova



*rizik od infekcije ljudi rukovanjem, pripremanjem ili konzumacijom svinjskog mesa

C – *Campylobacter* spp. (termofilni)

S – *Salmonella* spp.

Y - *Y. enterocolitica*

V - VTEC

Lm - *Listeria monocytogenes*

Sa - *Staphylococcus aureus*

Cb - *Clostridium botulinum*

Cd - *Clostridium difficile*

Cp - *Clostridium perfringens*

M – *Mycobacterium* spp.

T – *Trichinella* spp.

H - Hepatitis E virus

Ts – *Taenia solium cysticercus*

Tg - *Toxoplasma gondii* (Tg₁ –

otvoreni sistem držanja; Tg₂ –

zatvoreni sistem držanja)

Ss - *Sarcocystis suis hominis*

Ba – *Bacillus anthracis*

Le – *Leptospira* spp.

Stp – *Streptococcus pyogenes*

Sts - *Streptococcus suis*

Er – *Erysipelotrix rhusiopathiae*

B – *Brucella* spp.

Pm – *Pasturella multocida*

Ap – *Arcanobacterium pyogenes*

Re – *Rhodococcus equi*

E – *Echinococcus* spp.

As – *Ascaris suum*

4.4.5 Poređenje performansi inspekcije mesa i procesne higijene

Od odabranih stvarno ili potencijalno alimentarnih hazarda koji izazivaju lezije koje je moguće detektovati u zaklanih goveda, ocenjeno je da *Taenia saginata cysticercus* predstavlja srednji rizik, dok ostali hazardi predstavljaju nizak rizik za ljude koji konzumiraju goveđe meso. Od odabranih stvarno ili potencijalno alimentarnih hazarda koji ne izazivaju lezije koje je moguće detektovati u zaklanih goveda, a nalaze se u fecesu/na koži goveda i mogu da kontaminiraju meso trupova (moguće ih je kontrolisati samo adekvatnom procesnom higijenom), ocenjeno je da *Salmonella* i VTEC predstavljaju srednji rizik, dok ostali hazardi predstavljaju nizak rizik za ljude koji konzumiraju goveđe meso. U goveđim klanicama, procesna higijena ima tri puta jaču performansu (9:3) redukcije rizika od alimentarnih hazarda na ohlađenim goveđim trupovima (Tabela 40).

Tabela 40 - Poređenje performansi aktuelne inspekcije mesa i procesne higijene u goveđim klanicama

Rizici/hazardi* koje je moguće kontrolisati aktuelnom inspekcijom mesa			Rizici/hazardi* koje je moguće kontrolisati procesnom higijenom		
Hazard u/na ohlađenim goveđim trupovima	Rizik u pogledu alimentarne infekcije		Hazard u/na ohlađenim goveđim trupovima	Rizik u pogledu alimentarne infekcije	
<i>T. saginata cysticercus</i>	srednji	3	<i>Salmonella</i> spp.	srednji	3
<i>Mycobacterium</i> spp. (<i>M. bovis</i> , MAP)	nizak	1	VTEC	srednji	3
<i>Streptococcus</i> spp.	nizak	1	<i>Listeria monocytogenes</i>	nizak	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	nizak	1	<i>Yersinia enterocolitica</i>	nizak	1
<i>Coxiella burnetii</i>	nizak	1	<i>Campylobacter</i> spp. (termofilni)	nizak	1
<i>Bacillus anthracis</i>	nizak	1	<i>Staphylococcus aureus</i>	nizak	1
<i>Leptospira</i> spp.	nizak	1	<i>Clostridium botulinum</i>	nizak	1
<i>Brucella</i> spp. (<i>B. abortus</i>)	nizak	1	<i>Clostridium perfringens</i>	nizak	1
Performansa inspekcije mesa=			Performansa procesne higijene=		
3x1x1x1x1x1x1=3			3x3x1x1x1x1x1=9		

*za poređenje performansi inspekcije mesa i procesne higijene je odabrano po 8 najznačajnijih/najčešćih stvarno ili potencijalno alimentarnih hazarda

Od odabranih stvarno ili potencijalno alimentarnih hazarda koji izazivaju lezije koje je moguće detektovati u zaklanih svinja, rizik *Trichinella* je ocenjen srednjim, dok su ostali hazardi ocenjeni da predstavljaju nizak rizik za ljude koji konzumiraju svinjsko meso. Od odabranih stvarno ili potencijalno alimentarnih hazarda koji ne izazivaju lezije koje je moguće

detektovati u zaklanih svinja, a nalaze se u fecesu/na koži svinja i mogu da kontaminiraju meso trupova (moguće ih je kontrolisati samo adekvatnom procesnom higijenom), ocenjeno je da *Salmonella* predstavlja visok rizik, *Yersinia enterocolitica* srednji rizik, dok ostali hazardi predstavljaju nizak rizik za ljude koji konzumiraju svinjsko meso. U svinjskim klanicama, procesna higijena ima pet puta jaču performansu (15:3) redukcije rizika od alimentarnih hazarda na ohlađenim svinjskim trupovima (Tabela 41).

Tabela 41 - Poređenje performansi aktuelne inspekcije mesa i procesne higijene u svinjskim klanicama

Rizici/hazardi* koje je moguće kontrolisati aktuelnom inspekcijom mesa			Rizici/hazardi* koje je moguće kontrolisati procesnom higijenom		
Hazard u/na ohlađenim svinjskim trupovima	Rizik u pogledu alimentarne infekcije		Hazard u/na ohlađenim svinjskim trupovima	Rizik u pogledu alimentarne infekcije	
<i>Trichinella</i> spp.	srednji	3	<i>Salmonella</i> spp.	visok	5
<i>T. solium cysticercus</i>	nizak	1	<i>Yersinia enterocolitica</i>	srednji	3
<i>Mycobacterium</i> spp.	nizak	1	<i>Listeria monocytogenes</i>	nizak	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	nizak	1	VTEC	nizak	1
Hepatitis E virus	nizak	1	<i>Campylobacter</i> spp. (termofilni)	nizak	1
<i>Bacillus anthracis</i>	nizak	1	<i>Staphylococcus aureus</i>	nizak	1
<i>Leptospira</i> spp.	nizak	1	<i>Clostridium botulinum</i>	nizak	1
<i>Streptococcus pyogenes</i>	nizak	1	<i>Clostridium difficile</i>	nizak	1
Performansa inspekcije mesa=			Performansa procesne higijene=		
3x1x1x1x1x1x1=3			5x3x1x1x1x1x1=15		

*za poređenje performansi inspekcije mesa i procesne higijene je odabrano po 8 najznačajnijih/najčešćih stvarno ili potencijalno alimentarnih hazarda

4. 5 Diskusija

4.5.1 Goveda

Hazardi koji izazivaju bolesti goveda koje se najčešće detektuju aktuelnom inspekcijom mesa, kao što su ehinokokoza i fascioloza jetre (Blagojevic *et al.*, 2011a) izazvani sa *Echinococcus* spp. odnosno *Fasciola hepatica*, ujedno su i hazardi za javno zdravlje. Međutim, oni se ne prenose na ljude konzumiranjem mesa uključujući i organe invadirane ovim parazitozama. Stoga, odnosni rizici u kontekstu ovog rada spadaju u kategoriju zanemarljiv i nisu dalje razmatrani u oceni performanse aktuelne inspekcije mesa goveda. Većina drugih potencijalno alimentarnih hazarda koje je moguće detektovati

aktuelnom inspekcijom mesa goveda je niskog rizika. Od hazarda koji se kontrolišu inspekcijom mesa goveda, jedino je *T. saginata cysticercus* ocenjen kao srednji rizik. Tradicionalna inspekcija mesa je originalno i razvijena radi detekcije ovog hazarda, pored nekoliko drugih (Blackmore, 1986; Edwards *et al.*, 1997). Međutim, u razmatranju performansi inspekcije mesa mora se imati na umu i niska osetljivost makroskopske detekcije *T. saginata cysticercus* (Onyango-Abuje *et al.*, 1995; Dorny *et al.*, 2000).

Kada je reč o hazardima koji se kontrolišu procesnom higijenom u goveđim klanicama, rizici od dva hazarda, *Salmonella* i VTEC, su ocenjeni kao srednji. Takođe, zvanični podaci o monitoringu zoonoza u EU ukazuju da su ova dva hazarda u goveđem mesu velika pretnja javnom zdravlju u EU (EFSA, 2009; EFSA, 2010a; EFSA, 2011a). Veliki značaj VTEC u bezbednosti goveđeg mesa je opšteprepoznat (Park *et al.*, 1999; Kosmider *et al.*, 2010). Takođe, veliki značaj ima i *Salmonella* za bezbednost goveđeg mesa, iako niži u odnosu na VTEC kada se razmatra "source attribution" aspekt. Naime, poznato je da je značaj goveđeg mesa kao izvora salmoneloze ljudi manji u odnosu na jaja, meso živine i svinjsko meso (Hald *et al.*, 2004; EFSA, 2008b), ali je njegov značaj znatno veći kao izvora VTEC-infekcija u odnosu na druge vrste mesa.

Iz rezultata analize prikazanih u ovom poglavlju jasno proizilazi da procesna higijena klanja i obrade goveda ima veći ukupni potencijal u doprinosu biološkoj bezbednosti goveđeg mesa nego aktuelna inspekcija mesa. U dostupnoj literaturi nema podataka o ovoj vrsti poređenja kontrolnih strategija u upravljanju rizikom u goveđim klanicama. Stoga, ova studija pruža inicijalne indikacije u tom smislu, ali su neophodna dalja, detaljnija istraživanja o stvarnom doprinosu i opravdanosti svake od sadašnjih strategija upravljanja rizikom na klanicama – kao i njihovo poređenje - u cilju unapređenja bezbednosti goveđeg mesa.

4.5.2 Svinje

Hazardi koji izazivaju stanja u svinja koja se najčešće detektuju aktuelnom inspekcijom mesa, kao što su pneumonija i bronhopneumonija (Blagojevic *et al.*, 2011a) su ili od značaja isključivo za zdravlje svinja (npr. *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Mycoplasma hyorhinis* i *Haemophilus parasuis*) ili mogu predstavljati i hazarde za javno zdravlje ali primarno nealimentarnim putem (npr. *Pasturella multocida* i *Arcanobacterium pyogenes*) (Nordic Council of Ministers, 2006). Stoga, odnosni rizici u kontekstu ovog rada su ocenjeni

kao zanemarljivi i nisu dalje razmatrani u oceni performanse aktuelne inspekcije mesa svinja. Većina potencijalno alimentarnih hazarda koje je moguće detektovati aktuelnom inspekcijom mesa svinja je ocenjena kao niskog rizika; samo jedan hazard koji se kontroliše na ovaj način, *Trichinella* spp., je ocenjen kao srednji rizik. Generalno, povišen rizik od trihineloze ljudi je vezan samo za nekoliko zemalja u EU gde je ovaj parazit endemičan (EFSA, 2009; EFSA, 2010a; EFSA, 2011a). Pored toga, rizik od trihineloze se smatra zanemarljivim u svinja koje potiču sa farmi na kojima se pouzdano primenjuju adekvatne biosigurnosne mere (zatvoreni, integrisani sistemi gajenja), pa je u tim slučajevima i doprinos inspekcije mesa svinja javnom zdravlju putem pregleda mesa na ovog hazarda takođe zanemarljiv (SCVPH, 2001; EFSA, 2005).

Kada je reč o hazardima koji se kontrolišu procesnom higijenom u svinjskim klanicama, samo *Salmonella* je ocenjena kao visok rizik, a *Yersinia* kao srednji rizik. Ovo je u saglasnosti sa rangiranjem hazarda od strane Fosse *et al.* (2008), koji takođe smatraju ova dva hazarda najznačajnijim za bezbednost svinjskog mesa, pri čemu *Yersinia enterocolitica* pripisuju ipak nešto viši rizik u odnosu na *Salmonella*. Takođe, i druge studije i zvanični podaci o monitoringu zoonoza u EU ukazuju da su ova dva hazarda najčešći izazivači alimentarnih bolesti preko svinjskog mesa (Ostroff *et al.*, 1994; EFSA, 2009; EFSA, 2010a; EFSA, 2010b; EFSA, 2011a).

Iz navedenog je jasno da procesna higijena klanja i obrade svinja ima veći ukupni potencijal u doprinosu biološkoj bezbednosti svinjskog mesa nego aktuelna inspekcija mesa. U dostupnoj literaturi nema podataka o ovoj vrsti poređenja kontrolnih strategija u upravljanju rizikom u svinjskim klanicama. Stoga, ova studija pruža inicijalne indikacije u tom smislu, ali su neophodna dalja, detaljnija istraživanja o stvarnom doprinosu i opravdanosti svake od sadašnjih strategija upravljanja rizikom na klanicama – kao i njihovo poređenje - u cilju unapređenja bezbednosti svinjskog mesa.

4.5.3 Unapređenje osiguranja bezbednosti mesa trupova goveda i svinja u budućnosti

Toxoplasma gondii vrlo retko izaziva makroskopske lezije poput granuloma u plućima, srcu, mozgu goveda i svinja, a laboratorijsko/mikroskopsko ispitivanje mesa se ne sprovodi rutinski (Buncic, 2006). Kada je reč o svinjama, finalna kategorija rizika od ovog hazarda zavisi od sistema držanja – u „otvorenim sistemima gajenja“ je rizik u srednjoj

kategoriji. Stoga, sigurno je da bi buduća inspekcija mesa trebalo da bude usmerena na detekciju ovog hazarda u grupama svinja za koje analiza informacija iz lanca hrane pokaže da potiču sa otvorenih sistemima gajenja (Gebreyes *et al.*, 2008). Kada je reč o *Sarcocystis hominis/suihominis*, makroskopske lezije koje izazivaju u goveda/svinja (eozinofilni miozitis) se vrlo retko dijagnostikuju, a laboratorijsko/mikroskopsko ispitivanje mesa se ne sprovodi rutinski (Buncic, 2006). Rizik od ovih hazarda je u ovom radu ocenjen niskim, ali samo zbog nepostojećih podataka o prevalenciji u trupovima i odnosnoj bolesti ljudi; neophodno je sakupiti podatke, ponovo oceniti rizik i - ako je u višoj kategoriji - buduću inspekciju mesa bi svakako trebalo usmeriti na detekciju ovih hazarda.

Pored toga što aktuelna inspekcija mesa nije u mogućnosti da detektuje mikrobiološke hazarde koji su prisutni u klinički zdravih životinja, ona posreduje (palpacijama i incizijama) u unakrsnoj mikrobiološkoj kontaminaciji trupova i organa (Nesbakken *et al.*, 2003; Pointon *et al.*, 2000) i time čak „narušava“ pozitivne efekte procesne higijene. Iz tog razloga, sve je veća težnja da se inspekcija mesa što više sprovodi samo vizuelno, jer je ocenjeno da većina stanja koja se detektuju tradicionalnom inspekcijom mesa mogu da se otkriju i bez upotrebe ruku/noža inspektora (SCVPH, 2000; EFSA, 2004). Dalje, pošto su *Trichinella*, *T. gondii* i *Sarcocystis* intramuskularni paraziti i nije ih moguće kontrolisati procesnom higijenom, u slučajevima gde se ocenjuje da je rizik od ovih hazarda povišen, moguće je postići redukciju rizika za potrošače putem tretiranja mesa visokim ili niskim temperaturama u cilju njihove inaktivacije (Kotula *et al.*, 1991; Dubey, 1998; Gamble *et al.*, 2000).

Glavne napore i resurse treba uložiti da se istovremeno i efikasno kontrolišu alimentarni hazardi za koje se oceni da imaju prioritet, odnosno oni koji predstavljaju visok ili srednji rizik za zdravlje ljudi koji konzumiraju meso. Za neke hazarde koje aktuelna inspekcija mesa detektuje (*T. saginata cysticercus*, *Trichinella*) i za neke kojima se danas uopšte ne bavi (*Salmonella*, VTEC, *Yersinia enterocolitica*, *Toxoplasma gondii*), njihova pouzdana detekcija je moguća samo dodatnim, laboratorijskim testiranjem. Međutim, laboratorijsko ispitivanje uzoraka svakog trupa na multiple hazarde nije praktično, a nije ni pouzdano u pogledu garancije odsustva hazarda iz svih delova zaklane životinje; ali je njihova pouzdana inaktivacija odabranim tretmanima mesa moguća. Stoga je u cilju uspešnog menadžmenta rizika po bezbednost mesa finalnih trupova neophodno primeniti širi sistem kontrole („osiguranje bezbednosti mesa“) koji će na longitudinalan i integrisan način kombinovati niz preventivnih i kontrolnih mera i na nivou farme i na nivou klanice.

4. 6. Zaključak

Procesna higijena klanja i obrade goveda/svinja ima veći ukupni potencijal u doprinosu biološkoj bezbednosti mesa nego aktuelna inspekcija mesa. Inspekcija mesa ima veći značaj za detekciju hazarda za zdravlje/dobrobit životinja za klanje nego za zdravlje ljudi u pogledu potencijalno alimentarnih hazarda. Ova studija je pružila inicijalne indikacije o stvarnom doprinosu javnom zdravlju i opravdanosti – kao i njihovoj komparativnoj analizi – glavnih sadašnjih strategija upravljanja rizikom u klanicama za goveda i svinje. Međutim, neophodna su dalja, detaljnija istraživanja o stvarnom potencijalu inspekcije mesa i procesne higijene u klanici u osiguranju bezbednosti mesa. U budućnosti, glavne napore i resurse treba uložiti da se istovremeno i efikasno kontrolišu alimentarni hazardi za koje se oceni da predstavljaju značajan (visok ili srednji) rizik za zdravlje ljudi koji konzumiraju meso, kao i na strategije koje zaista obezbeđuju značajnu redukciju tih rizika. U cilju uspešnog upravljanja rizikom po bezbednost mesa finalnih trupova u klanici, neophodno je primeniti širi sistem kontrole („osiguranje bezbednosti mesa“) koji će na longitudinalan i integrisan način kombinovati niz preventivnih i kontrolnih mera i na nivou farme i na nivou klanice.

**V - UKUPNA DISKUSIJA I POTREBA ZA DALJIM
ISTRAŽIVANJIMA**

V-1. UKUPNA DISKUSIJA

Iako se „ocena rizika“, kao element u okviru „analize rizika“, široko koristi na formalan način tek od kraja 20. veka, neki principi ovog procesa su se i pre toga primenjivali da se kontrolne mere u cilju zaštite javnog zdravlja usmere na one hazarde koji su smatrani za najznačajnije u datom vremenu. Primeri rane primene principa ocene rizika uključuju makroskopsku inspekciju mesa i/ili mikrobiološko ispitivanje mesa, iako je ta primena bila znatno ređa, manje sofisticirana i slabije naučno zasnovana nego danas. U novije vreme, uporedo sa brzim razvojem naučnih metoda ocene rizika i njihovim sve intenzivnijim globalnim korišćenjem, jasno je prepoznata neophodnost da se ova metodologija praktično koristi i u oblasti osiguranja bezbednosti govedeg i svinjskog mesa. Međutim, konkretni načini kako da se sadašnji sistem bezbednosti mesa unapredi kroz rangiranje najznačajnijih hazarda za javno zdravlje povezanih sa mesom i prioritizaciju kontrolnih mera na osnovu tog rangiranja još uvek nisu razvijeni u dovoljnoj meri. Jedan od ključnih razloga za ovo nezadovoljavajuće stanje predstavlja činjenica da nisu dovoljno razvijeni i/ili naučno validovani specifični indikatori (parametri) na osnovu kojih bi se izvršili pomenuto rangiranje hazarda i prioritizacija kontrolnih mera. Stoga je osnovni cilj ove disertacije bio da se ocene performanse nekih od potencijalno najvažnijih indikatora rizika po bezbednost mesa na klanicama, kao i njihov realni potencijal u unapređenju bezbednosti mesa i zdravlju ljudi.

1.1 Rizična kategorizacija goveda i svinja za klanje

Priroda i učestalost hazarda povezanih sa klanjem/obradom životinja i mesa na klanicama je veoma raznovrsna (na primer, „vidljivi“ i „nevidljivi“ hazardi), stoga je razumljivo da je neophodno da se sistem za njihovu detekciju i kontrolu na klanici prilagodi njihovoj prirodi i nivou rizika koji predstavljaju. Čak, u slučaju nekih hazarda, njihova pouzdana detekcija u zaklanih životinja/mesu na klanici uopšte nije moguća u praktičnim uslovima klanice, stoga kontrole za takve hazarde mogu biti bazirane jedino na „teorijskoj“ oceni rizika od njihovog prisustva i posledica za ljude. Jedan od glavnih elemenata koji omogućavaju racionalno prilagođavanje kontrola prema hazardima, je određivanje stepena rizičnosti životinja pre klanja. Dosadašnje sugestije za dalje unapređenje bezbednosti mesa su uglavnom bile bazirane na pristupu da se životinje pre klanja prvo grupišu prema nivou rizika koji predstavljaju, a da se potom različito postupi sa više- i niže-rizičnim kategorijama

životinja. Grupisanje u rizične kategorije životinja pre klanja je, prema aktuelnoj legislativi EU („Higijenski paket 2004“), bazirano na informacijama iz lanca hrane (FCI) u okviru premortalne inspekcije životinja. Tako se životinjama nižeg rizika smatraju one za koje se raspolaze ovim informacijama, odnosno koje potiču iz integrisanih proizvodnih sistema (farme sa sistemima kontrole kvaliteta i potpune sledljivosti), koje su bile uključene u dijagnostičke programe i obuhvaćene sistematskim kontrolnim merama u odnosu na najznačajnije hazarde. Potom se, u zavisnosti od dobijenih informacija tokom premortalne inspekcije koju sprovodi zvanični veterinar u klanici, može da vrši rekategorizacija životinja, ako je potrebno. Međutim, u današnjoj praksi, korišćenje FCI u rizičnoj kategorizaciji životinja u odnosu na rizik po javno zdravlje je ograničeno i ima značajne nedostatke, kao što je istaknuto u poglavlju „Pregled literature“. Najveći nedostatak je nepostojanje adekvatnih, objektivnih i harmonizovanih indikatora koji bi rizičnu kategorizaciju životinja za klanje učinili efikasnijom i korisnijom. Zato je u ovom radu razmotreno određivanje nivoa haptoglobina u životinja za klanje, kao dodatni, objektivni parametar unutar FCI. Ovaj parametar bi ukazivao na opštu situaciju sa zdravljem životinja na farmi porekla, što bi pomoglo u donošenju odluke da li je moguće primeniti jednostavnije ili je neophodno detaljnije postmortalno ispitivanje tih životinja. Jednostavniji postmortalni pregled mesa – bez manuelnih manipulacija (palpacija, zasecanje) organa/tkiva - je moguć kod nisko-rizičnih kategorija životinja. On je i veoma poželjan, jer smanjuje unakrsnu mikrobiološku kontaminaciju mesa, a i inspekciju mesa čini ekonomičnijom. S druge strane, detaljni postmortalni pregled mesa (uključujući palpaciju/zasecanje) je – uprkos drugim navedenim nedostacima - neophodan kod životinja višeg rizika.

Ova studija nije ukazala na direktnu korelaciju između Hp nivoa i specifičnih postmortalnih nalaza na individualnom nivou goveda i svinja. Međutim, veoma je značajno da su dobijeni rezultati pokazali da su - na grupnom nivou - zaklane životinje sa abnormalnostima detektovanim inspekcijom mesa imale značajno viši srednji nivo haptoglobina nego životinje bez nađenih abnormalnosti. To je potvrdilo da grupne vrednosti Hp mogu biti korisne kao dodatni podatak u okviru FCI analize, pre nego da budu samostalan indikator u rizičnoj kategorizaciji grupa goveda i svinja na klanju. Takođe, u ovom radu se predlaže da se grupna srednja Hp vrednost u goveda i svinja koristi kao „troklasni indikator“ (prihvatljivo/marginalno/neprihvatljivo) njihove opšte rizičnosti, a ne kao „dvoklasni indikator“ (prihvatljivo ili neprihvatljivo). Drugim rečima, srednja Hp vrednost definisane grupe životinja može da ukazuje na generalnu rizičnost porekla (farme) goveda ili svinja, a ne

treba da se tumači kao indikator da li životinje stvarno nose hazarde za javno zdravlje. „Hpneprihvatljive“ grupe životinja se mogu podvrgnuti dodatnim, širim ispitivanjima da bi se: a) identifikovali uzroci; b) odredilo da li su hazardi za javno zdravlje stvarno prisutni; i c) primenile korektivne i preventivne mere na farmi porekla i/ili za vreme klanja i obrade životinja. Iz te perspektive, testiranje haptoglobina grupe životinja može da bude nova, značajna i korisna komponenta FCI u sistemu inspekcije mesa.

Kada je reč o govedima, u ovoj disertaciji je ocenjena i vrednost korišćenja kategorizacije čistoće kože goveda pre klanja kao dodatnog indikatora nivoa rizika od mikrobiološke kontaminacije finalnih trupova. Razlog tome je naučno utvrđena činjenica da je koža najvažniji izvor kontaminacije mesa trupova goveda. Odnos vizuelne čistoće kože goveda i prisustva opšte mikrobiote na njima je ukazao da se sa povećanjem zaprljanosti kože povećava i ukupan broj bakterija (TVC) i broj *Enterobacteriaceae* (EC) na njenoj površini. Još važnija utvrđena činjenica je da vizuelni status kože značajno utiče na nivo opšte mikrobiote na korespondentnim obrađenim trupovima: što su kože bile prljavije, obrađeni trupovi su bili mikrobiološki kontaminiraniji. Međutim, samo su se srednji nivoi TVC i EC na koži i obrađenim trupovima grupe goveda koja su imala najprljavije kože (kategorije 4 i 5 po sistemu koji se koristi u UK) značajno razlikovali od onih na koži i trupovima goveda svih ostalih kategorija. To je ukazalo da je, u praksi, dovoljno grupisati goveda pre klanja na dve rizične kategorije: niže-rizične životinje su kategorije čistoće 1, 2 i 3, a više-rizične su one koje pripadaju kategorijama 4 i 5 po sistemu koji se koristi u UK. Međutim, ova studija je ukazala i da se na osnovu vizuelne čistoće kože goveda ne može predvideti i njen status u pogledu prisustva glavnog alimentarnog patogena u lancu goveđeg mesa, *E. coli* O157, kao ni status korespondentnog trupa u pogledu ovog patogena, pošto je njegovo prisustvo multifaktorijalno.

Svrha rizične kategorizacije goveda i svinja pre klanja je da se sa određenim kategorijama životinja postupa u skladu sa nivoom rizika na koji odabrani indikatori ukazuju. Tako je moguće:

1. sprovesti logističko klanje - životinje nižeg rizika se kolju pre životinja višeg rizika na istim klanicama, ili na odvojenim klanicama gde je to moguće;
2. podesiti pre- i post-mortalni pregled - rutinski, pojednostavljen pregled niskorizičnih i detaljniji pregled sa dodatnim ispitivanjima životinja višeg rizika;

3. podesiti proces linije klanja i obrade - rutinski proces za niskorizične i usporen proces sa pojačanom higijenom i/ili dodatnim strategijama za dodatno snižavanje rizika i osiguranja bezbednosti mesa za rizičnije životinje.

1.2 Rizična kategorizacija govedih i svinjskih klanica

U okviru koncepta različitog postupanja sa različitim rizičnim kategorijama životinja, veoma je značajno da se, što je moguće ranije (normalno, pre njihovog transporta sa farmi na klanicu), odredi u koje klanice će biti upućene na klanje. U donošenju takve odluke, pored informacija o rizičnosti životinja sa date farme, neophodno je raspolagati i informacijama o nivoima potencijalnog rizika koje individualne klanice predstavljaju za javno zdravlje. Naime, danas postoji dovoljno naučnih saznanja i podataka koji ukazuju da – u zavisnosti od tehnologije, procesne higijene i efikasnosti sistema bezbednosti mesa koji se na njima primenjuju – neke klanice predstavljaju viši a druge niži nivo potencijalnog rizika u odnosu na higijenski status mesa koje isporučuju tržištu i javno zdravlje potrošača. Da bi se dobila informacija o stvarnom nivou ukupnog rizika koji klanica predstavlja, odnosno nivoa procesne higijene u klanicama i njihovo poređenje među klanicama, neophodno je raspolagati adekvatnom metodologijom za njenu ocenu. U oceni procesne higijene u klanicama, do danas su primenjivana dva pristupa: „vizuelna ocena higijene” i „mikrobiološko testiranje obrađenih trupova“. Međutim, sistem vizuelne ocene higijene je danas prevaziđen, prevashodno jer je subjektivan. Takođe, mikrobiološko testiranje samo trupova i to samo na kraju linije klanja i poređenje rezultata sa aktuelnim EU kriterijumima procesne higijene (PHC) je nedovoljno za ocenu performansi procesne higijene klanice, jer se u tom pristupu ne uzima u obzir inicijalna kontaminacija životinja (vezano za rizičnu kategorizaciju životinja).

Ova studija je jasno potvrdila da karakterisanje i razlikovanje između više ili manje higijenskih procesa klanja i obrade trupova u klanicama za goveda i svinje putem grupisanja u prihvatljivu, marginalnu ili neprihvatljivu kategoriju prema aktuelnim EU PHC baziranim na nivoima TVC i EC na finalnim trupovima nije dovoljno osetljivo/efikasno. Stoga je predloženo da se performansa procesne higijene govedih i svinjskih klanica bazira na određivanju razlike između nivoa ulazne (koža kao glavni izvor kontaminacije mesa) i izlazne (finalni goveđi i svinjski trupovi) mikrobiološke kontaminacije. Kada su procesi u klanicama karakterisani parametrom zasnovanim na ovakvom kvantitativnom odnosu, kapacitet i

efikasnost tih procesa u pogledu redukcije mikrobiološke kontaminacije sa kože na obrađene trupove je mogla da se odredi preciznije, a time i da se klanice sa više i manje higijenskim procesima znatno pouzdanije razlikuju. Takođe, ova studija je ukazala da, razlikovanje više ili manje higijenskih procesa samo na osnovu prevalencije najznačajnijih patogena na obrađenim finalnim trupovima goveda (*Escherichia coli* O157) i svinja (*Salmonella*) nije bilo dovoljno osetljivo/efektivno; stoga je preporučeno da se za karakterizaciju procesa u klanici ne koriste mikrobiološki kriterijumi bazirani na prevalenciji patogena. U ovakvom sistemu rizične kategorizacije klanica, očekuje se da klanice kod kojih je razlika između inicijalne mikrobiološke kontaminacije životinja i kontaminacije finalnih trupova veća, imaju bolju performansu procesne higijene nego klanice kod kojih je ta razlika manja. Tako, klanice u prvom slučaju se mogu kategorisati kao niže-rizične, dok su klanice u drugom slučaju više-rizične.

U pogledu globalnog osiguranja bezbednosti mesa i u okviru koncepta nivoa rizika, ovakav vid rizične kategorizacije klanica je važan da bi se podesile strategije u upravljanju rizikom:

1. optimizovanje rizične kategorizacije životinja i rizične kategorizacije klanica u pogledu određenih hazarda (npr. niskorizične klanice primaju/obrađuju više-rizične kategorije životinja);
2. odlučivanje o tome da li, u kojim klanicama i za koje grupe životinja je tokom procesa potrebno primeniti dodatne strategije redukcije rizika (npr. dekontaminacija trupova);
3. odlučivanje o strožijim zahtevima u pogledu monitoringa/verifikacija/audicije sistema bezbednosti (baziranim na HACCP) u klanicama višeg rizika;
4. preciznije identifikovanje klanica u kojima je neophodno promeniti/unaprediti tehnologiju klanja i obrade trupova.

1.3 Analiza rizika u sistemu osiguranja bezbednosti mesa finalnih trupova i poređenje globalnih performansi današnjih glavnih opcija kontrole rizika

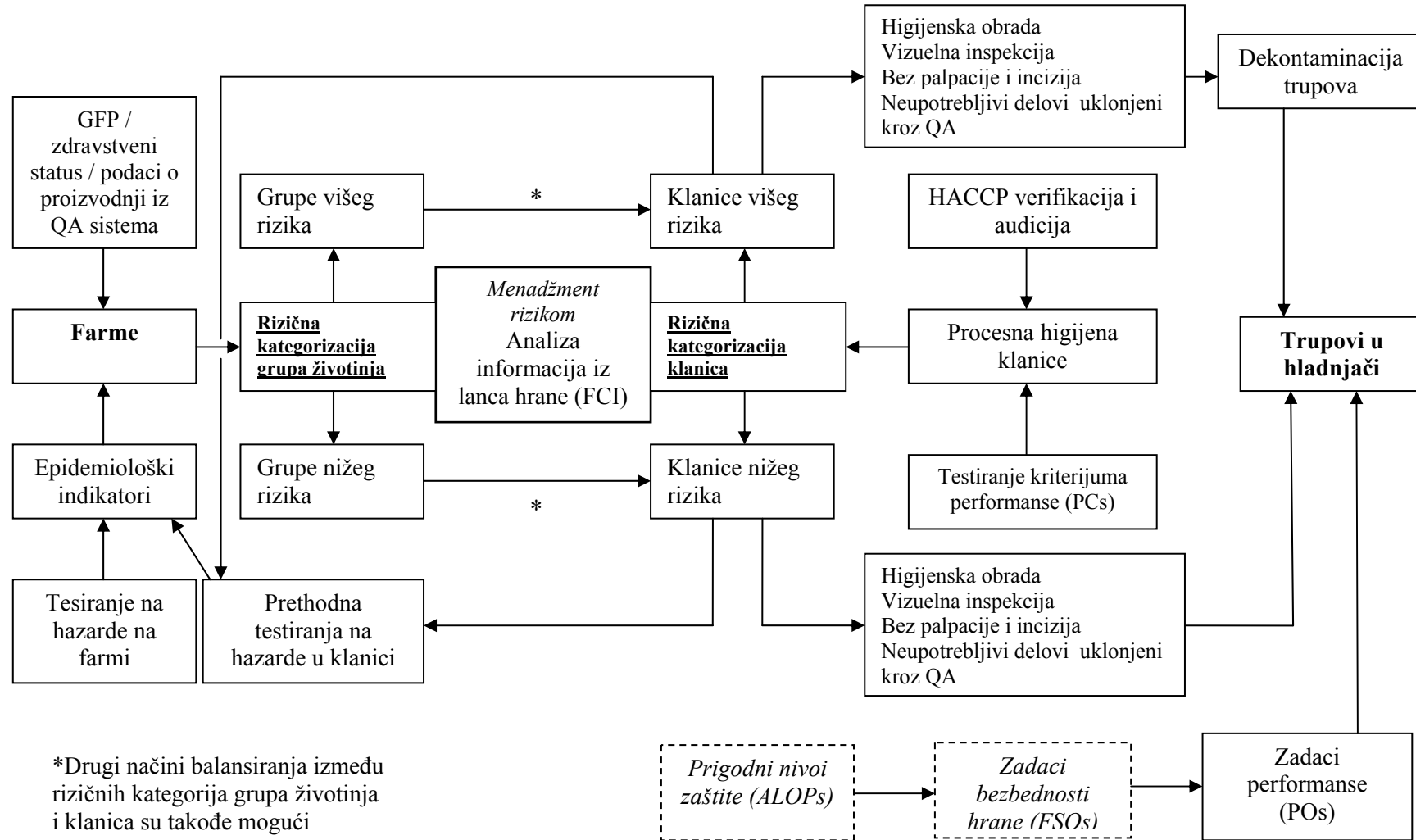
Biološka bezbednost mesa finalnih trupova na klanici, odnosno rizična kategorija mesa u odnosu na alimentarne hazarde, je multi-faktorijalna. Na nju utiču brojni faktori, uključujući one najvažnije: prisustvo zoonotskih hazarda u/na životinjama za klanje (rizična kategorija životinja) i kapacitet klanice da smanji mikrobiološku kontaminaciju tokom procesa klanja i

obrade (rizična kategorija klanica). Od tih faktora zavisi finalna verovatnoća prisustva i koncentracija alimentarnih patogena u/na mesu. Danas, glavne opcije u upravljanju rizikom od ovih hazarda na klanicama su zvanična inspekcija mesa (koju sprovode ovlašćeni veterinari) i sistemi bezbednosti mesa (koje primenjuje sama klanica) bazirani na GMP/GHP i HACCP. Pošto je istorijski jasno prepoznato da se priroda i veličina problema u pogledu bezbednosti mesa znatno menjala tokom vremena, razumljivo je da je neophodno periodično ocenjivati stvarne performanse svake od ovih opcija u upravljanju rizikom za potrošače od alimentarnih hazarda iz mesa, a zatim ih upoređivati. Međutim, do danas, nema objavljenih istraživanja o direktnom poređenju značajnosti rizika koji se specifično kontrolišu svakom od dve navedene glavne opcije, odnosno o tome da li i u kojoj meri se te dve opcije razlikuju u pogledu stvarnog doprinosa bezbednosti mesa i javnom zdravlju. Međutim, za puni razvoj danas opšteprihvaćenog koncepta osiguranja bezbednosti mesa baziranog na oceni rizika, ovakve informacije su neophodne.

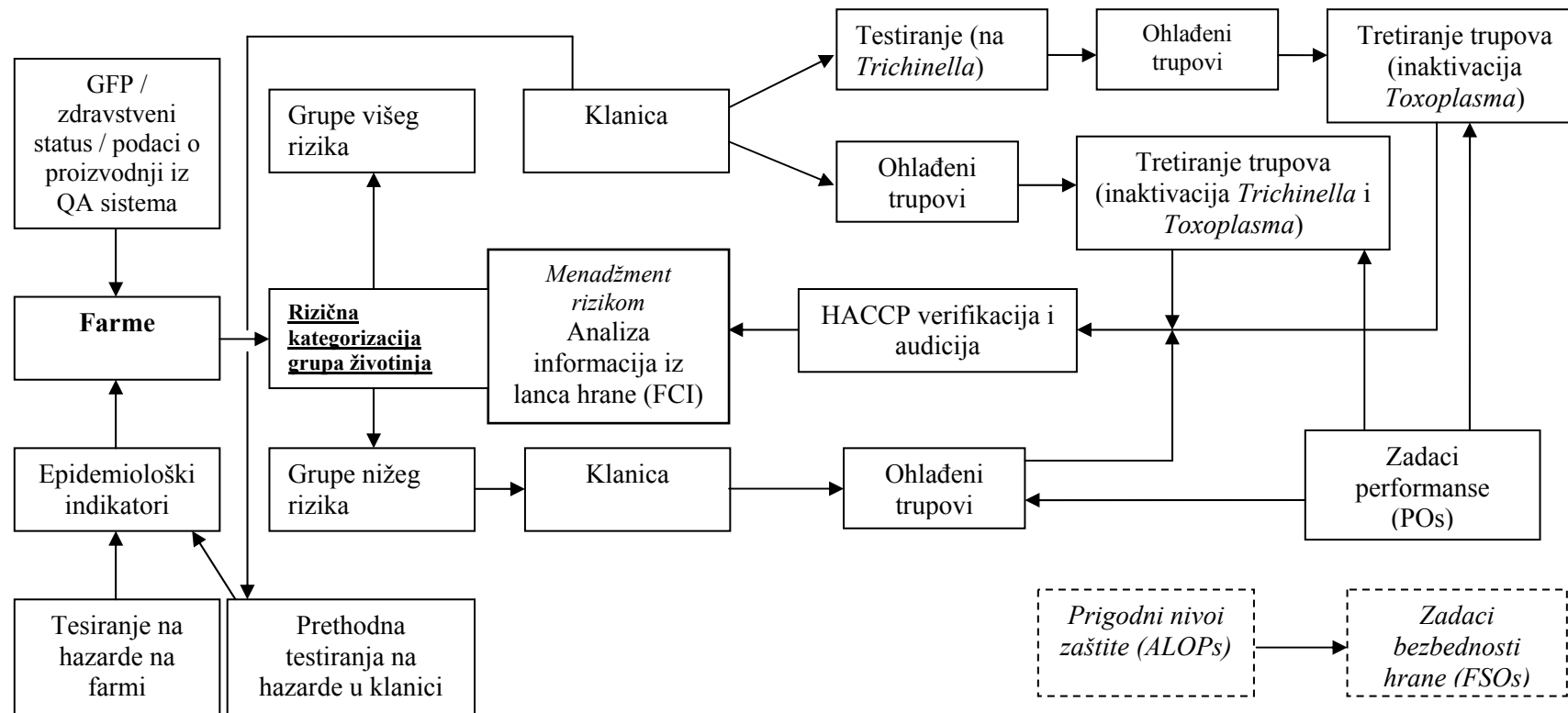
Ova studija je ukazala da na nivou klanice, u današnje vreme i u postojećoj epidemiološkoj situaciji u pogledu hazarda povezanih sa mesom procesna higijena klanja i obrade goveda i svinja ima značajno veći ukupni potencijal u doprinosu biološkoj bezbednosti mesa nego aktuelna inspekcija mesa. Naime, u goveđim klanicama, samo jedan od hazarda koji se kontrolišu inspekcijom mesa (*T. saginata cysticercus*) je ocenjen kao srednji rizik (svi ostali su nizak/zanemarljiv rizik), ali su dva hazarda od onih koji se kontrolišu adekvatnom procesnom higijenom (*Salmonella* i VTEC) ocenjena kao srednji rizik (svi ostali su nizak/zanemarljiv rizik). Slično, u svinjskim klanicama je samo jedan hazard od onih koji se kontrolišu inspekcijom mesa (*Trichinella*) ocenjen kao srednji rizik (svi ostali su nizak/zanemarljiv rizik), ali od hazarda koji se kontrolišu adekvatnom procesnom higijenom jedan je ocenjen kao visok (*Salmonella*) i jedan kao srednji (*Yersinia*) rizik (svi ostali su nizak/zanemarljiv rizik). Međutim, iako opcija kontrole rizika kroz procesnu higijenu više doprinosi ukupnom osiguranju bezbednosti mesa nego opcija inspekcije mesa, ne sme se izgubiti iz vida da je neke od navedenih rizika moguće kontrolisati samo jednom od te dve opcije. To znači da u globalnom sistemu bezbednosti mesa obe opcije imaju svoju ulogu, da se one međusobno dopunjavaju i da se obe moraju uključiti u jedan integrisani sistem. Dodatno, ova studija je ukazala da postoje i hazardi koji, pod određenim okolnostima, mogu predstavljati povišen rizik za zdravlje ljudi, ali ih je trenutno nemoguće kontrolisati bilo kojom od pomenute dve glavne, danas korišćene strategije u upravljanju rizicima na klanici

(*Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis hominis/suihominis*). Za ove hazarde, buduća istraživanja su neophodna u cilju identifikacije i razvoja optimalnih opcija za njihovu efikasnu kontrolu.

Osnovna svrha analize rizika u bezbednosti mesa je da se identifikuje i razvije optimalan način kako bi se naponi i dostupni resursi efikasno koristili u istovremenoj kontroli alimentarnih hazarda za koje se oceni da imaju prioritet u datom vremenu i situaciji, odnosno onih koji predstavljaju visok ili srednji rizik za zdravlje ljudi koji konzumiraju meso. Neke hazarde aktuelna inspekcija mesa može da detektuje (npr. *T. saginata cysticercus*, *Trichinella*), a nekima se danas uopšte ne bavi (npr. *Salmonella*, VTEC, *Yersinia enterocolitica*, *Toxoplasma gondii*) i njihova pozdana detekcija je moguća samo dodatnim, laboratorijskim testiranjem. Međutim, laboratorijsko ispitivanje uzoraka svakog trupa na više značajnih hazarda nije ni praktično ni potpuno pouzdano u pogledu garancije odsustva hazarda iz svih delova zaklane životinje. Međutim, kao alternativa, pouzdana inaktivacija takvih hazarda odabranim tretmanima mesa jeste moguća. Rezultati ove studije jasno ukazuju da je u cilju uspešnog menadžmenta rizika po bezbednost mesa finalnih trupova neophodno primeniti širi, globalni sistem („osiguranje bezbednosti mesa“), koji će na longitudinalan i integrisan način kombinovati niz preventivnih i kontrolnih mera i na nivou farme i na nivou klanice, uključujući rizične kategorizacije i životinja i klanica. Naučna osnova, generički okvir i osnovni principi tog sistema su u najnovije vreme formulisani od strane Evropske agencije za bezbednost hrane (EFSA), kao što je šematski prikazano u Grafikonima 21 i 22. Centralno mesto u tom sistemu ima menadžer rizika, koji donosi glavne operativne odluke o izboru i načinu primene kontrolnih mera za redukciju ili eliminaciju rizika koje će se primeniti u datim situacijama, a do kojih dolazi kroz proces ocene rizika bazirane na adekvatnim informacijama sa najvažnijih tačaka lanca od farme životinja do finalnog trupa na klanici. Može se jasno videti da su glavni naučni nalazi i preporuke proizašli iz istraživanja prezentovanih u ovoj disertaciji potpuno kompatibilni i u saglasnosti sa filozofijom i generičkim operativnim aspektima modernog sistema osiguranja bezbednosti mesa opisanog u tom najnovijem naučnom dokumentu EFSA-e (EFSA, 2011b).



Grafikon 21 - Glavni elementi osiguranja bezbednosti mesa trupova u pogledu bakterijskih patogenih (npr. *Salmonella*, VTEC, *Yersinia*) (izvor: EFSA, 2011b)



Grafikon 22 - Glavni elementi osiguranja bezbednosti mesa trupova u pogledu parazitskih patogena (npr. *Trichinella*, *Toxoplasma*) (izvor: EFSA, 2011b)

V-2. POTREBA ZA DALJIM ISTRAŽIVANJIMA

Rezultati ove doktorske disertacije su pokazali opštu i/ili potencijalnu korisnost primene ispitivanih indikatora rizika za unapređenje biološke bezbednosti mesa trupova goveda i svinja na klanicama. Međutim, u cilju potpune kvantifikacije doprinosa tih indikatora (individualno i u kombinacijama) bezbednosti mesa, kao i u cilju optimizacije njihove primene u praksi, neophodna su dalja istraživanja koja bi uključivala naročito:

1. bazične studije o varijacijama nivoa haptoglobina u goveda i svinja pod različitim farmskim i klaničnim uslovima da bi se ustanovile jedinstvene, univerzalne i pouzdane granične vrednosti koje bi razdvajale više- i niže-rizične grupe životinja u kontekstu bezbednosti mesa, kao i o korisnosti i drugih proteina akutne faze goveda i svinja u tom pogledu (individualno ili u kombinaciji sa Hp);
2. provera prednosti i korisnosti novih parametara procesne higijene koji su predloženi u okviru ove disertacije, kao i definisanje odnosnih kriterijuma prihvatljivosti/neprihvatljivosti klaničnih procesa, kroz istraživanja pod varijabilnim uslovima u većem broju klanica sa različitim kapacitetima i tehnologijama;
3. detaljnija i dublja istraživanja u cilju individualne kvantifikacije i komparacije stvarnih doprinosa bezbednosti mesa i javnom zdravlju sadašnjih (i budućih) strategija upravljanja rizikom na klanicama.

VI - UKUPNI ZAKLJUČAK

1. Ispitivanjem odnosa između prosečnog nivoa haptoglobina (Hp) u krvnom serumu definisanih grupa goveda i svinja i nalaza premortalne i postmortalne inspekcije mesa životinja iz tih grupa, utvrđeno je da postoji značajni potencijal korišćenja haptoglobina kao indikatora u rizičnoj kategorizaciji grupa goveda i svinja pre klanja.
 - 1a. Određivanje prosečne koncentracije serumskog Hp u grupama ovih životinja može da se koristi kao dodatni, objektivni indikator opšte prihvatljivosti zdravstvenog statusa životinja koje dolaze sa određenih farmi u okviru analize informacija iz lanca hrane (FCI) kao dela premortalne inspekcije u klanicama.
 - 1b. Informacija o Hp nivoima doprinosi i boljoj naučnoj zasnovanosti odluka o načinu postmortalne inspekcije (pojednostavljena ili detaljnija) koji će se primeniti kod tih životinja.
 - 1c. Međutim, neophodna su dalja, šira istraživanja u cilju potpunog razvoja i specifikacije „haptoglobinskih kriterijuma“ za određivanje generalne prihvatljivosti goveda i svinja za klanje, kao i kriterijuma koji bi ukazivali na prisustvo hazarda za zdravlje ljudi u životinja za klanje.

2. Utvrđeno je postojanje veze između vizuelne čistoće goveda i mikrobiološkog statusa koža i finalnih trupova tih životinja.
 - 2a. Numerička ocena čistoće kože može da se koristi kao jedan od indikatora nivoa rizika od mikrobiološke kontaminacije obrađenih trupova u pogledu generičke mikrobiote.
 - 2b. Međutim, nije utvrđena jasna veza između numeričke ocene čistoće kože i prisustva *Escherichia coli* O157 na finalnim trupovima goveda, jer na ovo poslednje utiču multipli faktori.
 - 2c. Ukupno, potvrđena je opravdanost korišćenja sistema vizuelne ocene čistoće goveda pre klanja kao jednog elementa u sistemu bezbednosti goveđeg mesa.

3. Ispitivanjem odnosa između mikrobiološkog statusa kože goveda i svinja i korespondentnih finalnih trupova u klanicama u pogledu generičke mikrobiote, utvrđeno je da kvantitativni odnos između nivoa ulazne (na koži) i finalne (na trupovima) kontaminacije može da se koristi kao novi indikator za rizičnu kategorizaciju goveđih i svinjskih klanica u pogledu njihovih performansi u redukciji rizika od mikrobiološke kontaminacije mesa.
 - 3a. Ovaj indikator je precizniji i omogućava pouzdaniju kategorizaciju procesne higijene u klanicama u odnosu na kriterijume procesne higijene koji se trenutno primenjuju u EU.
 - 3b. Ipak, pre njegove primene u praksi, potrebno je obaviti dodatnu praktičnu validaciju ovog indikatora u većem broju klanica različitih proizvodnih kapaciteta i primenjenih tehnologija.

4. Poređenjem performansi dveju glavnih strategija koje se danas koriste u upravljanju biološkim rizicima za bezbednost mesa na klanicama za goveda i svinje (bazirane na inspekciji mesa i procesnoj higijeni), obavljenim kroz kvalitativnu ocenu rizika za zdravlje ljudi od alimentarnih hazarda povezanih sa tim mesom, utvrđeno je procesna higijena danas značajno više doprinosi ukupnoj biološkoj bezbednosti mesa trupova u odnosu na aktuelnu inspekciju mesa.
 - 4a. Međutim, ne sme se izgubiti iz vida da je neke od navedenih rizika moguće kontrolisati samo jednom od te dve glavne strategije.
 - 4b. Stoga, u globalnom sistemu bezbednosti mesa obe navedene strategije imaju svoju ulogu, one se međusobno dopunjavaju i obe se moraju uključiti u jedan integrisani sistem.
 - 4c. U cilju uspešnog upravljanja rizikom po bezbednost mesa u klanici, neophodno je primeniti širi sistem kontrole („osiguranje bezbednosti mesa“) koji će na longitudinalan i integrisan način kombinovati niz preventivnih i kontrolnih mera koje moraju da se preduzimaju i na nivou farme i na nivou klanice, uz periodične provere da li taj sistem zaista kontroliše najvažnije hazarde u očekivanoj meri.

VII - LITERATURA

-
- Agerso H., Friis C., Nielsen J. P. (1998) Penetration of amoxicillin to the respiratory tract tissues and secretions in *Actinobacillus pleuropneumoniae* infected pigs. *Research in Veterinary Science* 64, 251-257
- Alban L., Vilstrup C., Steenberg B., Jensen H. E., Aalbæk B., Thune-Stephensen F., Jensen S. (2008) Assessment of the risk for humans associated with Supply Chain Meat Inspection – The Danish way. Danish Veterinary and Food Administration/Danish Meat Association
- Alban L., Steenberg B., Petersen J. V., Jensen S. (2009) Is palpation of the intestinal lymph nodes a necessary part of meat inspection of finisher pigs? Danish Agricultural & Food Council
- Alban L., Pozio E., Boes J., Boireau P., Boue F., Claes M., Cook A. J. C., Dorny P., Enemark H. L., van der Giessen J., Hunt K. R., Howell M., Kirjusina M., Nockler K., Rossi P., Smith G. C., Snow L., Taylor M. A., Theodoropoulos G., Vallee I., Viera-Pinto M. M., I.A. Zimmer I. A. (2011) Towards a standardised surveillance for *Trichinella* in the European Union. *Preventive Veterinary Medicine* 99, 148-160
- Allos B. M., Blaser M. J. (1995) *Campylobacter jejuni* and the expanding spectrum of related infections. *Clinical Infectious Disease* 20, 1092–1101
- Alsemgeest S. P. M., Kalsbeek H. C., Wensing T., Koeman J. P., van Ederen A. M., Gruys E. (1994) Concentrations of serum amyloid A (SAA) and haptoglobin (Hp) as parameters of inflammatory diseases in cattle. *Veterinary Quarterly* 16, 21–23
- Alsemgeest S. P., Lambooy I. E., Wierenga H. K., Dieleman S. J., Meerkerk B., van Ederen A. M., Niewold T. A. (1995) Influence of physical stress on the plasma concentration of serum amyloid-A (SAA) and haptoglobin (Hp) in calves. *Veterinary Quarterly* 17, 9–12
- American Meat Science Association (AMSA) (1999) The role of microbiological testing in beef food safety programs. The scientific perspective.
- Amory J. R., Mackenzie A. M., Eckersall P. D., Stear M. J., Pearce G. P. (2007) Influence of rearing conditions and respiratory disease on haptoglobin levels in the pig at slaughter. *Research in Veterinary Science* 83, 428–435
- Andersen J. K., Sorensen R., Glensbjerg, M. (1991) Aspects of the epidemiology of *Yersinia enterocolitica*: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 13, 231–238
- Anderson S. A., Woo R. W. Y., Crawford L. M. (2001) Risk assessment of the impact on human health of resistant *Campylobacter jejuni* from fluoroquinolone use in beef cattle. *Food Control* 12, 13–25
- Angen O., Thomsen J., Larsen L. E., Larsen J., Kokotovic B., Heegaard P. M. H., Enemark J. M. D. (2009) Respiratory disease in calves: Microbiological investigations on
-

trans-tracheally aspirated bronchoalveolar fluid and acute phase protein response. *Veterinary Microbiology* 137, 165–171

Antic D., Blagojevic B., Ducic M., Nastasijevic I., Mitrovic R., Buncic, S. (2010a) Distribution of microflora on cattle hides and its transmission to meat via direct contact. *Food Control* 21, 1025-1029

Antic D., Blagojevic B., Ducic M., Nastasijevic I., Mitrovic R., Buncic S. (2010b) Treatment of cattle hides with Shellac-in-ethanol solution to reduce bacterial transferability - a preliminary study. *Meat Science* 85, 77-81

Antic D. (2011) Antimicrobial treatment of cattle hides to improve microbial safety of beef meat. PhD Dissertation. University of Novi Sad, Serbia. (In Serbian)

Antic D., Blagojevic B., Buncic S. (2011) Treatment of cattle hides with Shellac solution to reduce hide-to-beef microbial transfer. *Meat Science* 88, 498–502

Arthur T. M., Bosilevac J. M., Nou X., Shackelford S. D., Wheeler T. L., Kent M. P., Jaroni D., Pauling B., Allen D. M., Koohmaraie M. (2004). *Escherichia coli* O157 prevalence and enumeration of aerobic bacteria, *Enterobacteriaceae*, and *Escherichia coli* O157 at various steps in commercial beef processing plants. *Journal of Food Protection* 67, 658-665

Asai T., Mori M., Okada M., Uruno K., Yazawa S., Shibata I. (1999) Elevated serum haptoglobin in pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 70, 143– 148

Avery, S. M., Small, A., Reid, C.-A. & Buncic, S. (2002). Pulsed-field gel electrophoresis characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 from hides of cattle at slaughter. *Journal of Food Protection*, 65, 1172-1176

Batz M. B., Doyle M. P., Morris G., Painter J. J., Singh R., Tauxe R. V., Taylor M. R., Lo Fo Wong D. M. A. (2005) Attributing illness to Food. *Emerging Infectious Diseases*, 11, 993–999

Baumann H, Gauldie J. (1994) The acute phase response. *Immunology Today* 15, 74-80

Bell C. (2006) Foodborne disease strategy. Evaluation. report prepared for the Food Standards Agency. Dostupno na: <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/fdsevaluationreport.pdf>. Pristupljeno 15.1.2011.

Bell R. G. (1997) Distribution and sources of microbial contamination on beef carcasses. *Journal of Applied Microbiology* 82, 292-300

Bemrah N., Sanaa M., Cassin M. H., Griffiths M. W., Cerf O. (1998) Quantitative risk assessment of human listeriosis from consumption of soft cheese made from raw milk. *Preventive Veterinary Medicine* 37, 129–145

- Berends B. R., Snijders J. M. A., van Logtestijn J. G. (1993) Efficacy of current meat inspection procedures and some proposed revisions with respect to microbiological food safety: a critical review. *Veterinary Record* 133, 411-415
- Berends B. R., van Knapen F., Snijders J. M. A. (1996) Suggestions for the construction, analysis and use of descriptive epidemiological models for the modernization of meat inspection. *International Journal of Food Microbiology* 30, 27-36
- Bernard A., Hermans C., Broeckaert F., De Poorter G., De Cock A., Houins G. (1999) Food contamination by PCBs and dioxins. *Nature* 401, 231-232
- Bernard D. T., Scott V. N. (1995) Risk assessment and food-borne micro-organisms: The difficulties of biological diversity. *Food Control* 6, 329-333
- Berrang M. E., Buhr R. J., Cason J. A., Dickens J. A. (2001) Broiler carcass contamination with *Campylobacter* from feces during defeathering. *Journal of Food Protection* 64, 2063-2066
- Berry B. A., Confer A. W., Krehbiel C. R., Gill D. R., Smith R. A., Montelongo M. (2004) Effects of dietary energy and starch concentrations for newly received feedlot calves. II. Acute-phase protein response. *Journal of Animal Science* 82, 845-850
- Blackmore D. K. (1986) Developments in veterinary public health as they affect meat quality. *Kajian Veterinar Malaysia* 18, 229-234
- Blagojevic B., Ducic M., Radovanovic D., Tesic M., Pejin I. Mirilovic M., Tajdic N., Avery S. (2009) Vol I: Nature and principles of pre-requisite programmes and HACCP plans, pp. 1-155. In: Buncic S. (Ed.) *Guide for development and implementation of pre-requisite programmes and HACCP principles in food production (1st Ed.)*. Serbian Ministry of Agriculture, Forestry and Waters, Veterinary Directorate, Belgrade, Serbia (http://www.mpt.gov.rs/download/HACCP_vodic.pdf) (In Serbian)
- Blagojevic B., Antic D., Ducic M., Buncic S. (2011a) A study of Haptoglobin levels in groups of cattle and pigs with and without abnormalities at meat inspection. *Foodborne Pathogens and Disease* 8. *In press*
- Blagojevic B., Antic D., Ducic M., Buncic S. (2011b) Ratio between carcass and skin-microflora as an abattoir process hygiene indicator. *Food Control* 22, 186-190
- Boes J., Nersting L., Nielsen E. M., Kranker S., Enoe C., Wachmann H. C., Baggesen D. L. (2005) Prevalence and diversity of *Campylobacter jejuni* in pig herds on farms with and without cattle or poultry. *Journal of Food Protection* 68, 722-727
- Bolton D. J., Sheridan J. J., Doherty A. M. (2000) HACCP for Irish beef slaughter. Dublin, Ireland: Teagasc-The National Food Centre.
- Bonardi S., Maggi E., Bottarelli A., Pacciarini M.L., Ansuini A., Vellini G., Morabito S., Caprioli A. (1999) Isolation of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 from cattle at slaughter in Italy. *Veterinary Microbiology* 67, 203-211

- Bonardi S., Brindani F., Pizzin G., Lucidi L., D'Incau M., Liebana E., Morabito S. (2003) Detection of *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica* and verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in pigs at slaughter in Italy. *International Journal of Food Microbiology* 85, 101-110
- Bonde M., Toft N., Thomsen P. T., Sorensen J. T. (2010) Evaluation of sensitivity and specificity of routine meat inspection of Danish slaughter pigs using Latent Class Analysis. *Preventive Veterinary Medicine* 94, 165-169
- Borch E., Nesbakken T., Christensen H. (1996) Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 30, 9-25
- Bosilevac J. M., Nou X., Osborn M. S., Allen D. M., Koohmaraie M. (2005) Development and evaluation of an online hide decontamination procedure for use in a commercial beef processing plant. *Journal of Food Protection* 68, 265-272
- Botteldoorn N., Heyndrickx M., Rijpens N., Grijspeerdt K., Herman L. (2003) Salmonella on pig carcasses: positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse. *Journal of Applied Microbiology* 95, 891-903
- Bottone E. J. (1999) *Yersinia enterocolitica*: overview and epidemiologic correlates. *Microbes and Infection* 1, 323-333
- Bremner K. C. (1964) Studies on haptoglobin and haemopexin in the plasma of cattle. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science* 42, 643-656
- Brown M. (2000) HACCP in the meat industry. Woodhead Publishing Group, Cambridge, UK
- Brown M. H., Davies K.W., Billon C.M. P., Adair C., McClure P. J. (1998) Quantitative microbiological risk assessment: principles applied to determining the comparative risk of salmonellosis from chicken products. *Journal of Food Protection* 61, 1446-1453
- Buchanan R. L., Damert W. G., Whiting R. C., van Schothorst M. (1997) Use of epidemiologic and food survey data to estimate a purposefully conservative dose-response relationship for *Listeria monocytogenes* levels and incidence of listeriosis. *Journal of Food Protection* 60, 918-922
- Bucher M., Meyer C., Grotzbach B., Wacheck S., Stolle A., Fredriksson-Ahomaa M. (2008) Epidemiological data on pathogenic *Yersinia enterocolitica* in Southern Germany during 2000-2006. *Foodborne Pathogens and Disease* 5, 273-280
- Bullen J. J. (1981) The significance of iron in infection. *Reviews of Infectious Diseases* 3, 1127-1138 (citiran u Petersen *et al.*, 2004)
- Bull S. A., Allen V. M., Domingue G., Jorgensen F., Frost J. A., Ure R., Whyte R., Tinker D., Corry J. E., Gillard-King J., Humphrey T. J. (2006) Sources of *Campylobacter* spp.

colonizing housed broiler flocks during rearing. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 645–652

Buncic S., Avery S. M. (2004) Microbiological Safety of Meats: *Listeria monocytogenes*. In Jensen W.K., Devine C., Dikeman M. (Eds) *Encyclopaedia of Meat Sciences*, Vol. 2, Elsevier, Oxford, pp. 804-814

Buncic S. (2006) *Integrated Food Safety and Veterinary Public Health*. CABI International Publishing, Wallingford, Oxfordshire, UK

Buncic S., Collins J. D., Smulders F. J. M., Colin P. (2009) Biological food safety in relation to animal welfare. In: *Welfare of production animals: assessment and management of risks*. Smulders FJM and Algers B (Eds.) Wageningen: Wageningen Academic Publishers, pp 485-532.

Buncic S., Mirilovic M. (2010) *Trichinellosis* in wild and domestic pigs and public health; a Serbian perspective. In: Paulsen P., Bauer A. and M. Vodnansky (Eds) *Game Meat Hygiene in Focus: Microbiology, Epidemiology, Risk Analysis and Quality Assurance*. Wageningen Pers, Amsterdam

Buxton D. (1990) Ovine toxoplasmosis: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine* Volume 83, 509-511

Caprioli A., Morabito S., Brugere H., Oswald E. (2005) Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Veterinary Research* 36, 289-311

Carpintero R., Alonso C., Iturralde M., Alava M. A., Pineiro A., Lampreave F. (2005a) Acute phase protein response in pigs experimentally infected with African swine fever virus. 5th International Colloquium on Animal Acute Phase Proteins, Dublin, Ireland

Carpintero R., Madec F., Iturralde M., Alava M. A., Pineiro A., Lampreave F. (2005b) Acute phase protein in pigs experimentally infected with Aujeszky's disease virus. 5th International Colloquium on Animal Acute Phase Proteins, Dublin, Ireland

Carroll J. A., Fangman T. J., Hambach A. K., Wiedmeyer C. E. (2004) The acute phase response in pigs experimentally infected with *Escherichia coli* and treated with systemic bactericidal antibiotics. *Livestock Production Science* 85, 35–44

Carter J. N., Meredith G. L., Montelongo M., Donald R. G., Krehbiel C. R., Payton M. E., Confer A. W. (2002) The relationship of vitamin E supplementation and antimicrobial treatment with acute phase protein response in cattle affected by naturally acquired respiratory tract disease, *American Journal of Veterinary Research* 63, 1111–1117

Cassin M. H., Lammerding A. M., Todd E. C. D., Ross W., McColl R. S. (1998). Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef hamburgers. *International Journal of Food Microbiology* 41, 21–44

-
- Center for Disease Control and Prevention (CDC) (2011a)
<http://www.cdc.gov/qfever/symptoms/index.html> (pristupljeno 2.8.2011.)
- Center for Disease Control and Prevention (CDC) (2011b)
<http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/brucellosis/technical.html>
(pristupljeno 2.8.2011.)
- Chapman P. A., Siddons C. A., Wright D. J., Norman P., Fox J., Crick E. (1992) Cattle as a source of verotoxigenic *Escherichia coli* O157. *Veterinary Record* 131, 323–324
- Chassagne M., Barnouin J., Chacornac J.P. (1998) Biological predictors for early clinical mastitis occurrence in Holstein cows under field conditions in France. *Preventive Veterinary Medicine* 35, 29–38
- Chen L., Geys H., Cawthraw S., Havelaar A., Teunis P. (2006) Dose Response for Infectivity of Several Strains of *Campylobacter jejuni* in Chickens. *Risk Analysis* 26,1613-1621
- Codex Alimentarius Commission (CAC) (1993) Guidelines for the Application of the Hazard Analysis Critical Control Point System. FAO, Rome
- Codex Alimentarius Commission (CAC) (1997a) Principles for the Establishment and Application of Microbiological Criteria for Foods. CAC/GL-21, Rome, Italy
- Codex Alimentarius Commission (CAC) (1997b). Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) system and Guidelines for its Application. Annex to CAC/RCP 1-1969, Rev. 3, FAO, Rome.
- Codex Alimentarius Commission (CAC) (1999) Principles and Guidelines for the Conduct of Microbiological Risk Assessment. CAC/GL-30, Rome, Italy
- Codex Alimentarius Commission (CAC) (2001) Report of the thirty-fourth session of the Codex Committee on Food Hygiene. Alinorm 03/13, FAO, Rome.
- Codex Alimentarius Commission (CAC) (2005) Code of hygienic practice for meat. CAC/RCP 58-2005
- Codex Alimentarius Commission (CAC) (2007). Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk management (MRM). CAC/GL-63, Rome, Italy
- Codex Alimentarius Commission (CAC) (2008). Procedural Manual 18th Edition. Rome, Italy
- Coleman M., Marks H. (1998) Topics in dose-response modelling. *Journal of Food Protection* 61, 1550-1559
- Collis V. J., Reid C.-A., Hutchison M. L., Davies M. H., Wheeler K. P. A., Small A., Buncic S. (2004) Spread of marker bacteria from the hides of cattle in a simulated livestock market and at an abattoir. *Journal of Food Protection* 67, 2397-2402

Commission Decision 2001/471/EC of 26 April 2004 regards bacteriological tests in certain meat establishments

Commission Regulation (EC) No 2160/2003 of the European Parliament and of the Council of 17 November 2003 on the control of *Salmonella* and other specified food-borne zoonotic agents

Commission Regulation (EC) No 646/2007 of 12 June 2007 implementing Regulation (EC) No 2160/2003 of the European Parliament and of the Council as regards a Community target for the reduction of the prevalence of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* in broilers and repealing Regulation (EC) No 1091/2005

Commission Regulation (EC) No 852/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on the hygiene of foodstuffs

Commission Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin

Commission Regulation (EC) No 854/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific rules for the organisation of official controls on products of animal origin intended for human consumption

Commission Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs

Commission Regulation (EC) No 2074/2005 of 5 December 2005

Commission Regulation (EC) No 2075/2005 of 5 December 2005 laying down specific rules on official controls for *Trichinella* in meat

Commission Regulation (EC) No 1441/2007 amending Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs

Conner J. G., Eckersall P. D., Wiseman A., Aitchison T. C., Douglas T. A. (1988) Bovine acute phase response following turpentine injection, *Research in Veterinary Science* 44, 82–88

Conner J. G., Eckersall P. D., Wiseman A., Bain R. K., Douglas T. A. (1989) Acute phase response in calves following infection with *Pasteurella haemolytica*, *Ostertagia ostertagi* and endotoxin administration. *Research in Veterinary Science* 47, 203–207

Cook A. J. C., Gilbert R. E., Buffolano W., Zufferey J., Petersen E., Jenum P. A., Foulon W., Semprini A. E., Dunn D. T. (2000) Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicenter case-control study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *British Medical Journal* 321, 142-147

Cox L.A. Jr, Babayev D., Huber W. (2005) Some limitations of qualitative risk rating systems. *Risk Analysis* 25, 651–662

- Crockett C. S., Haas C. N., Fazil A., Rose J. B., Gerba C. P. (1996) Prevalence of shigellosis in the U.S.: consistency with dose-response information. *International Journal of Food Microbiology* 30, 87-99
- Costello E., Egan J. W. A., Quigley F. C., O'Reilly P. F. (1997) Performance of the single intradermal comparative tuberculin test in identifying cattle with tuberculous lesions in Irish herds. *Veterinary Record* 141, 222-224
- Da Cruz A. G., Cenci S. A., Maia M. C. A. (2006) Quality assurance requirements in produce processing. *Trends in Food Science and Technology* 17, 406-411
- Danschler A. M., Thoefner M. B., Heegaard P. M. H., Ekstrom C. T., Jacobsen S. (2011) Acute phase protein response during acute ruminal acidosis in cattle. *Livestock Science* 135, 62-69
- Davies M. H., Hadley P. J., Stosic P. J., Webster S. D. (2000) Production factors that influence the hygienic condition of finished beef cattle. *Veterinary Record* 146, 179-183
- Davies R. H., McLaren I. M., Bedford S. (1999) Observations on the distribution of *Salmonella* in a pig abattoir. *Veterinary Record* 145, 655-661
- Deak T., Meriwether J. L., Fleshner M., Spencer R. L., Abouhamze A., Moldawer L. L., Grahn R. E., Watkins L. R., Maier S. F. (1997) Evidence that brief stress may induce the acute phase response in rats. *American Journal of Physiology* 273, R1998-2004
- Deignan T., Alwan A., Kelly J., McNair J., Warren T., Farrelly C. O. (2000) Serum haptoglobin: An objective indicator of experimentally-induced *Salmonella* infection in calves. *Research in Veterinary Science* 69, 153-158
- Delange J., Langlois M., Ouyang J., Claeys G., De Buyzere M., Wuyts B. (1998) Effect of haptoglobin phenotypes on growth of *Streptococcus pyogenes*. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 36, 691-696
- De la Rúa-Domenech R. (2006) Human *Mycobacterium bovis* infection in the United Kingdom: Incidence, risks, control measures and review of the zoonotic aspects of bovine tuberculosis. *Tuberculosis* 86, 77-109
- De la Rúa-Domenech R., Goodchild A. T., Vordermeier H. M., Hewinson R. G., Christiansen K. H., Clifton-Hadley R. S. (2006) Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: a review of the tuberculin tests, gamma-interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. *Research in Veterinary Science* 81, 190-210
- Delazari I., Riemann H. P., Hajmeer M. (2006) Food safety. In: Riemann H. P., Cliver D. O. (Eds.) *Foodborne Infections and Intoxications* (3rd Ed.) Elsevier, UK, pp 833-884
- Donnelly C. W. (2001) *Listeria monocytogenes*. In: Hui Y. H., Pierson M. D., Gorham J. R. (Eds.) *Foodborne Disease Handbook* (2nd Ed., Revised and Expanded Volume 1: Bacterial Pathogens) Marcel Dekker Inc., New York, USA, pp 213-245

- Dorny P., Vercammen F., Brandt J., Vansteenkiste W., Berkvens D., Geerts S. (2000) Sero-epidemiological study of *Taenia saginata* cysticercosis in Belgian cattle. *Veterinary parasitology* 89, 63-69
- Dubey J. P., Beattie C. P. (1988) *Toxoplasmosis of animals and man*. CRC Press, Boca Raton, FLA, pp 220
- Dubey J. P. (1998) *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures. *Journal of Parasitology* 84, 862-865
- Dubey J. P., Gamble H. R., Hill D., Sreekumar C., Romand S., Thuilliez P. (2002) High prevalence of viable *Toxoplasma gondii* infection in market weight pigs from a farm in Massachusetts. *Journal of Parasitology* 88, 1234-1238
- Dubey J. P., Murrell K. D., Cross J. H. (2006) Foodborne parasites. In: Riemann H. P., Cliver D. O. (Eds.) *Foodborne Infections and Intoxications* (3rd Ed.) Elsevier, UK, pp 449-482
- Dwinger R. H., Golden T. E., Hatakka M., Chalus T. (2009) Regulations on Meat Hygiene and Safety in the European Union. In: Toldra F. (Ed.) *Safety of Meat and Processed Meat*. Springer, New York, USA, pp 631-647
- Earley B., Crowe M. A. (2002) Effects of ketoprofen alone or in combination with local anesthesia during the castration of bull calves on plasma cortisol, immunological and inflammatory responses. *Journal of Animal Science* 80, 1044–1052.
- Eaton J. W., Brandt P., Mahoney J. R. (1982) Haptoglobin: A natural bacteriostat. *Science* 215, 691–693 (citiran u Petersen *et al.*, 2004)
- EC (2000) White paper on food safety. Commission of the European Communities, Brussels, 12 January 2000
- EC (2009) Salmonellosis - number of cases.
http://ec.europa.eu/health/ph_information/dissemination/echi/docs/salmonellosis_en.pdf
(pristupljeno 1.2.2011.)
- Eckersall P. D., Conner J. G. (1990) Plasma haptoglobin in cattle (*Bos taurus*) exists as polymers in association with albumin. *Comparative Biochemistry and Physiology Series B* 96, 309–314
- Eckersall P. D., Saini P. K., McComb C. (1996) The acute phase response of acid soluble glycoprotein, alpha-1-acid glycoprotein, ceruloplasmin, haptoglobin and C-reactive protein, in the pig. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 51, 377–385
- Eckersall, P. D. (2000). Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. *Revue de Medecine Veterinaire* 151, 577-584

Eckersall P. D., Young F. J., McComb C., Hogarth C. J., Safi S., Weber A., McDonald T., Nolan A. M., Fitzpatrick J. L. (2001) Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. *Veterinary Record* 148, 35–41

Eckersall, P. D. (2004) The time is right for acute phase protein assays. *The Veterinary Journal* 168, 3–5

Eckersall P. D., Young F. J., Nolan A. M., Knight C. H., McComb C., Waterston M. M., Hogarth C. J., Scott E. M., Fitzpatrick J. L. (2006) Acute phase proteins in bovine milk in an experimental model of *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science* 89, 1488-1501

Edwards D. S., Johnston A. M., Mead G. C. (1997) Meat inspection: an overview of present practices and future trends. *The Veterinary Journal* 154, 135-147

Elder R. O., Keen J. E., Siragusa G. R., Barkocy-Gallagher G. A., Koochmaraie M., Laegreid W. W. (2000) Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 prevalence in feces, hides, and carcasses of beef cattle during processing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 97, 2999-3003

Eurell T. E., Bane D. P., Hall W. F., Schaeffer D. J. (1992) Serum haptoglobin concentration as an indicator of weight gain in pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research* 56, 6–9

European Commission (EC) (2003) Risk assessment of food borne bacterial pathogens: Quantitative methodology relevant for human exposure assessment. Adopted by the Scientific Steering Committee at its Plenary Meeting 16-17 January 2003

European Commission (2005) Discussion paper: On strategy for setting microbiological criteria for foodstuffs in Community legislation. Brussels 8.3.2005, SANCO/ 1252/2001 Rev. 11

European Food Safety Authority (EFSA) (2003) Tuberculosis in Bovine Animals: Risks for human health and control strategies. *The EFSA Journal* 13, 1-52

European Food Safety Authority (EFSA) (2004) Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on Revision of meat inspection for beef. *The EFSA Journal* 141, 1-56

European Food Safety Authority (EFSA) (2005) Risk assessment of a revised inspection of slaughter animals in areas with low prevalence of *Trichinella*. *The EFSA Journal* 200, 1-411

European Food Safety Authority (EFSA) (2006) Trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistance in the European Union in 2004. *The EFSA Journal* 2005, 310

European Food Safety Authority (EFSA) (2007a) The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2005. *The EFSA Journal* 2006, 94

European Food Safety Authority (EFSA) (2007b) Surveillance and monitoring of *Toxoplasma* in humans, food and animals. The EFSA Journal 583, 1-64

European Food Safety Authority (EFSA) (2007c) Scientific opinion of the panel on biological hazards on a request from EFSA on monitoring of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) and identification of human pathogenic VTEC types. The EFSA Journal 579, 1–61

European Food Safety Authority (EFSA) (2007d) Scientific opinion of the panel on BIOHAZ on a request from EFSA on monitoring and identification of human enteropathogenic *Yersinia* spp. The EFSA Journal 595, 1–30

European Food Safety Authority (EFSA) (2007e) Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on microbiological criteria and targets based on risk analysis. The EFSA Journal 462, 1-29

European Food Safety Authority (EFSA) (2008a) The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2006. The EFSA Journal 2007, 130

European Food Safety Authority (EFSA) (2008b) Source attribution for human salmonellosis from meat. The EFSA Journal 625, 1-32

European Food Safety Authority (EFSA) (2009) Trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in the European Union in 2007. The EFSA Journal 2009, 223

European Food Safety Authority (EFSA) (2010a) The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. The EFSA Journal 2010, 1496

European Food Safety Authority (EFSA) (2010b) Scientific Opinion on a Quantitative Microbiological Risk Assessment of *Salmonella* in slaughter and breeder pigs. The EFSA Journal 2010, 1547

European Food Safety Authority (EFSA) (2011a) The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009. EFSA Journal 2011, 2090

European Food Safety Authority (EFSA) (2011b) Scientific Opinion on the public health hazards to be covered by inspection of meat from swine. The EFSA Journal 2011

Farber J. M., Peterkin P. I. (1991) *Listeria monocytogenes*: A foodborne pathogen. Microbiology Reviews 55, 476–511

Faulkner D. B., Eurell T., Tranquilli W. J., Ott R. T., Ohl M. W., Cmarik G. F., Zinn G. (1992) Performance and health of weanling bulls after butorphanol and xylazine administration at castration. Journal of Animal Science 70, 2970– 2974

Fazil A., Lammerding A., Morales R., Vicari A. S., Kasuga F. (2000) Hazard identification and hazard characterization of *Salmonella* in broilers and eggs. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Risk Assessment of Microbiological Hazards in Foods. FAO, Rome

Fisher A. D., Crowe M. A., O’Nuallain E .M., Monaghan M. L., Larkin J. A., O’Kiely P., Enright W. J., (1997) Effects of cortisol on in vitro interferon-gamma production, acute-phase proteins, growth, and feed intake in a calf castration model. *Journal of Animal Science* 75, 1041–1047

Fisher A. D., Knight T. W., Cosgrove G. P., Death A. F., Anderson C. B., Duganzich D. M., Matthews L. R. (2001) Effects of surgical or banding castration on stress responses and behavior of bulls. *Australian Veterinary Journal* 79, 279–284

Food and Agricultural Organization (FAO) (1994) Manual on meat inspection for developing countries. FAO animal production and health paper 119, Rome, Italy

Food and Agricultural Organization (FAO) (1998) Food Quality and Safety Systems. A Training Manual on Food Hygiene and the Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) System. Rome, Italy

Food and Agricultural Organization and World Health Organization (FAO/WHO) (1995) Application of Risk Analysis to Food Standards issues. Report of the joint FAO/WHO Expert Consultation, Geneva, Switzerland, 13-17 March, 1995.

Food and Agricultural Organization and World Health Organization (FAO/WHO) (1997) Risk management and food safety. FAO food and nutrition paper 65. Report of a Joint FAO/WHO Consultation Rome, Italy, 27 to 31 January 1997

Food and Agricultural Organization and World Health Organization (FAO/WHO) (1999) The application of risk communication to food standards and safety matters. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Rome, 2-6 February 1998. FAO Food and Nutrition Paper No. 70

Food and Agricultural Organization and World Health Organization (FAO/WHO) (2002) Risk assessments of *Salmonella* in eggs and broiler chickens. Microbiological Risk Assessment Series, 1-302

Food and Agricultural Organization and World Health Organization (FAO/WHO) (2004a) Food safety objectives as a tool in development of food hygiene standards, guidelines and related texts. Rome, Italy

Food and Agricultural Organization and World Health Organization (FAO/WHO) (2004b) Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: technical report. Microbiological risk assessment series No. 5

Food and Agricultural Organization and World Health Organization (FAO/WHO) (2006a) Food safety risk analysis - A guide for national food safety authorities. FAO food and nutrition paper 87. Rome, Italy

Food and Agricultural Organization and World Health Organization (FAO/WHO) (2006b) The use of microbiological risk assessment outputs to develop practical risk management strategies: Metrics to improve food safety. Report. A joint FAO/WHO Expert Meeting in Kiel, Germany. April 3-7, 2006

Food and Agricultural Organization and World Health Organization (FAO/WHO) (2009a) Risk Characterization of Microbiological Hazards in Food. Microbiological Risk Assessment Series 17.

Food and Agricultural Organization and World Health Organization (FAO/WHO) (2009b) Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens: Technical Report. Microbiological Risk Assessment Series No 12

Food Standards Agency (FSA) (2001) Microbiological foodborne disease strategy: revised post Board discussion.

Food Standards Agency (FSA) (2002) Red Meat Safety & Clean Livestock. London, UK

Forsythe S. J. (2002) The microbiological risk assessment of food. Blackwell Science Ltd. Oxford, UK

Fosse J., Seegers H., Magras C. (2008) Foodborne zoonoses due to meat: a quantitative approach for a comparative risk assessment applied to pig slaughtering in Europe. *Veterinary Research* 39, 1

Fossum C., Watrang E., Fuxler L., Jensen K.T., Wallgren P. (1998) Evaluation of various cytokines (IL-6, IFN- α , IFN- γ , TNF- α) as markers for acute bacterial infection in swine – a possible role for serum interleukin-6. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 64, 161–172

Francisco C. J., Shryock T. R., Bane D. P., Unverzagt L. (1996) Serum haptoglobin concentration in growing swine after intranasal challenge with *Bordetella bronchiseptica* and toxigenic *Pasteurella multocida* type D. *Canadian Journal of Veterinary Research* 60, 222–227

Francis J. (1973) Very small public health risk from flesh of tuberculous cattle. *Australian Veterinary Journal* 49, 496-497

Franko D. A., Williams C. E. (2001) *Campylobacter jejuni*. In: Hui Y. H., Pierson M. D., Gorham J. R. (Eds.) *Foodborne Disease Handbook Second Edition, Revised and Expanded Volume 1: Bacterial Pathogens*. Marcel Dekker Inc., New York, USA, pp 83-105

Fredriksson-Ahomaa M., Stolle A., Siitonen A., Korkeala H. (2006) Sporadic human *Yersinia enterocolitica* infections caused by bioserotype 4/O:3 originate mainly from pigs. *Journal of Medical Microbiology* 55, 747–749

Frenkel J.K. (1988) Physiopathology of toxoplasmosis. *Parasitology Today* 4, 273–278

- Gabay C., Kushner I. (1999) Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *The New England Journal of Medicine* 340, 448-454
- Gallagher D. L., Ebel E. D., Kause J. R. (2003) FSIS/USDA. Draft FSIS risk assessment for *Listeria* in ready-to-eat meat and poultry products.
- Gamble H. R., Bessonov A. S., Cuperlovic K., Gajadhar A. A., van Knapen F., Noeckler K., Schenone H., Zhu X. (2000) International Commission on Trichinellosis: recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption. *Veterinary Parasitology* 93, 393-408
- Ganheim C., Hulten C., Carlsson U., Kindahl H., Niskanen R., Persson Waller K. (2003) The acute phase response in calves experimentally infected with bovine viral diarrhoea virus and/or *Manheimia haemolytica*. *Journal of Veterinary Medicine Series B* 50, 183–190
- Ganheim C., J. Hoglund J., Persson Waller K. (2004) Acute Phase Proteins in Response to *Dictyocaulus viviparus* Infection in Calves. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 45, 79-86
- Ganheim C., Alenius S., Persson Waller K. (2007) Acute phase proteins as indicators of calf herd health. *The Veterinary Journal* 173, 645-651
- Garcia H. H., Gonzalez, A. E., Evans C. A., Gilman R. H. (2003) *Taenia solium* cysticercosis. *Lancet* 362, 547-556
- Gebreyes W. A., Bahnson P. B., Funk J. A., McKean J., Patchanee P. (2008) Seroprevalence of *Trichinella*, *Toxoplasma*, and *Salmonella* in antimicrobial-free and conventional swine production systems. *Foodborne Pathogens and Disease* 5, 199-203
- Geysen D., Kanobana K., Victor B., Rodriguez-Hidalgo R., de Borchgrave J., Brandt J., Dorny P. (2007) Validation of meat inspection results for *Taenia saginata* cysticercosis by PCR–restriction fragment length polymorphism. *Journal of Food Protection* 70, 236–240
- Gill C. O., McGinnis J. C., Badoni M. (1996) Assessment of the hygienic characteristics of a beef carcass dressing process. *Journal of Food Protection* 59, 136-140
- Gill C. O., Jones T. (1997) Assessment of the hygienic characteristics of a process for dressing pasteurized pig carcasses. *Food Microbiology* 14, 81-91
- Gill C. O., Bryant J., Bedard D. (1999) The effects of hot water pasteurizing treatments on the appearance and microbiological conditions of beef carcass sides. *Food Microbiology* 16, 281-289
- Gill C. O. (2004) Visible contamination on animals and carcasses and the microbiological condition of meat. *Journal of Food Protection* 67, 413-419
- Glass E. J., Craigmile S. C., Springbett A., Preston P. M., Kirvar E., Wilkie G. M., Eckersall P. D., Hall F. R., Brown C. G. D. (2003) The protozoan parasite, *Theileria*

annulata, induces a distinct acute phase protein response in cattle that is associated with pathology. *International Journal for Parasitology* 33, 1409–1418

Godson D. L., Campos M., Attah-Poku S. K., Redmond M. J., Cordeiro D. M., Sehti M. S., Harland R. J., Babiuk L. A. (1996) Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 51, 277–292

Gomez-Laguna J., Salguero F. J., Pallares F. J., Fernandez de Marco M., Barranco I., Ceron J. J., Martinez-Subiela S., Van Reeth K., Carrasco L. (2009) Acute phase response in porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 33, e51-e58

Gorris L. G. M. (2005) Food safety objective: An integral part of food chain management. *Food Control* 16, 801-809

Goulet V., Marchetti P. (1996) Listeriosis in 225 non-pregnant patients in 1992: clinical aspects and outcome in relation to predisposing conditions. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 28, 367–374

Gracey J. F., Collins D. S., Huey R. J. (1999) *Meat hygiene*. W. B. Saunders London

Grau-Roma L., Heegaard P. M. H., Hjulsager C. K., Sibila M., Kristensen C. S., Allepuz A., M. Pineiro M., Larsen L. E., Segales J., Fraile L. (2009) Pig-major acute phase protein and haptoglobin serum concentrations correlate with PCV2 viremia and the clinical course of postweaning multisystemic wasting syndrome. *Veterinary Microbiology* 138, 53–61

Gray M. L., Young C., Stanker L. H., Bounous D.I. (1996) Measurement of serum haptoglobin in neonatal farm-raised and bob veal calves using two immunoassay methods. *Veterinary Clinical Pathology* 25, 38–42

Gronlund U., Hulten C., Eckersall P. D., Hogarth C., Waller K. P. (2003) Haptoglobin and serum amyloid A in milk and serum during acute and chronic experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis. *Journal of Dairy Research* 70, 379–386

Gronlund U., Sandgren C. H., Waller K. P. (2005) Haptoglobin and serum amyloid A in milk from dairy cows with chronic sub-clinical mastitis. *Veterinary Research* 36, 191-198

Grossklaus D. (1987) The future role of the veterinarian in the control of zoonoses. *The Veterinary Quarterly* 9, 321-331

Haas C. N., Thayyar-Madabusi A., Rose J. B., Gerba C. P. (2000) Development of a dose-response relationship for *Escherichia coli* O157:H7. *International Journal of Food Microbiology* 1748, 153–159

Hajmeer M. N, Fung D. Y. C. (2006) Infections with other bacteria. In: Riemann H. P., Cliver D. O. (Eds.) *Foodborne Infections and Intoxications* (3rd Ed.) Elsevier, UK, pp 341-367

-
- Hald T., Vose D., Wegener H. C., Koupeev T. (2004) A Bayesian Approach to Quantify the Contribution of Animal-Food Sources to Human Salmonellosis. *Risk Analysis* 24, 255-269
- Hall W. F., Eurell T. E., Hansenand R. D., Herr L. G. (1992) Serum haptoglobin concentration in swine naturally or experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Journal of American Veterinary Medical Association* 201, 1730–1733
- Hamilton D. R., Gallas P., Lyall L., McOrist S., Hathaway S. C., Pointon A. M. (2002) Risk-based evaluation of post-mortem inspection procedures for pigs in Australia. *Veterinary Record* 151, 110-116
- Hannu T., Mattila L., Rautelin H., Pelkonen P., Lahdenne P., Siitonen A., Leirisalo-Repo M. (2002) *Campylobacter* triggered reactive arthritis: a population-based study. *Rheumatology* 41, 312-318
- Harbers A. H. M., Smeets J. F., Snijders J. M. A. (1991) Predictability of post mortem abnormalities in shipments of slaughter pigs as an aid for meat inspection. *Veterinary Quarterly* 13, 74-80
- Harbers A. H. M., Elbers A. R. W., Geelen A. J., Rambags P. G. M., Snijders J. M. A. (1992) Preselection of finishing pigs on the farm as an aid for meat inspection. *Veterinary Quarterly* 14, 46-50
- Hartung J. (2003) Effects of transport on health of farm animals. *Veterinary Research Communication* 27, 525-527
- Hathaway S.C., McKenzie A. I., Royal W. A. (1987) Cost-effective meat inspection. *The Veterinary Record* 120, 78
- Hathaway S. C., McKenzie A. I. (1989) Impact of ovine meat inspection systems on processing and production costs. *Veterinary Record* 124, 189-193
- Hathaway, S. C. (1993) Risk analysis and meat hygiene. *Revue Scientifique et Technique* 12, 1265-1290
- Hathaway S. C., McKenzie A. L. (1991) Postmortem meat inspection programs; separating science and tradition. *Journal of Food Protection* 54, 471-475
- Hathaway S. C., Richards M. S. (1993) Determination of the performance attributes of postmortem meat inspection procedures. *Preventive Veterinary Medicine* 16, 119-31
- Havelaar A. H., Nauta M. J., Jansen J. T. (2004) Fine-tuning Food Safety Objectives and risk assessment. *International Journal of Food Microbiology* 93, 11-29
- Havelaar A. H., Evers E. G., Nauta M. J. (2008) Challenges of quantitative microbial risk assessment at EU level. *Trends in Food Science and Technology* 19, S26-S33
-

- Heegaard P. M. H., Klausen J., Nielsen J.P., Gonzalez-Ramon N., Pineiro M., Lampreave F., Alava M. A. (1998) The porcine acute phase response to infection with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Haptoglobin, C-reactive protein, major acute phase protein and serum amyloid A protein are sensitive indicators of infection. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part B* 119, 365–373
- Heegaard P. M. H., Godson D. L., Toussaint M. J. M., Tjørnehoj K., Larsen L. E., Viuff B., Ronsholt L. (2000) The acute phase response of haptoglobin and serum amyloid A (SAA) in cattle undergoing experimental infection with bovine respiratory syncytial virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 77, 151–159
- Heinonen M., Orro T., Kokkonen T., Munsterhjelm C., Peltoniemi O., Valros A. (2009) Tail biting induces a strong acute phase response and tail-end inflammation in finishing pigs. *The Veterinary Journal* 184, 303–307
- Heinrich P. C., Castell J. C., Andus T. (1990) Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochemical Journal* 265, 621–636
- Heuvelink A. E., Zwartkruis-Nahuis J. T., van den Biggelaar F. L., van Leeuwen W. J., de Boer E. (1999) Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from slaughter pigs and poultry. *International Journal of Food Microbiology* 52, 67–75
- Hickey M. C., Drennan M. and Early B. (2003) The effect of abrupt weaning of suckler calves on the plasma concentrations of cortisol, catecholamines, leukocytes, acute-phase proteins and in vitro interferon-gamma production. *Journal of Animal Science* 81, 2847–2855
- Hill A., Brouwer A., Donaldson N., Lambton S., Buncic S., Griffiths I. (2011) A Risk and Benefit Assessment for Visual-Only Meat Inspection of UK Indoor and Outdoor Pigs. Project FS245009 Report. Food Standards Agency, London, UK, pp 1–51
- Hirvonen J., Pyorala S., Jousimies-Somer H. (1996) Acute phase response in heifers with experimentally induced mastitis. *Journal of Dairy Research* 63, 351–360
- Hirvonen J., Hietakorpi S., Saloniemi H. (1997) Acute phase response in emergency slaughtered dairy cows. *Meat Science* 46, 249–257
- Hirvonen J., Pyorala S. (1998) Acute-phase response in dairy cows with surgically-treated abdominal disorders. *The Veterinary Journal* 155, 53–61
- Hirvonen J., Huszenicza G., Kulcsár M., Pyörälä S. (1999a) Acute-phase response in dairy cows with acute postpartum metritis. *Theriogenology* 51, 1071–1083
- Hirvonen J., Eklund K., Teppo A.M., Huszenicza G., Kulcsar M., Saloniemi H., Pyörälä S. (1999b) Acute phase response in dairy cows with experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. *Acta Veterinaria Scandinavica* 40, 35–46

- Hofner M. C., Fosbery M. W., Eckersall P. D., Donaldson A. I. (1994) Haptoglobin response of cattle infected with foot-and-mouth disease virus. *Research in Veterinary Science* 57, 125–128
- Holcomb D. L., Smith M. A., Ware G. O., Hung Y. C., Brackett R. E., Doyle M. P. (1999) Comparison of Six Dose-Response Models for Use with Food-Borne Pathogens. *Risk Analysis* 19, 1091-1100
- Horadagoda A., Eckersall P.D., Hodgson J.C., Gibbs H.A., Moon G.M. (1994) Immediate responses in serum TNF α and acute phase protein concentrations to infection with *Pasteurella haemolytica* A1 in calves. *Research in Veterinary Science* 57, 129–132
- Horadagoda N. U., Knox K. M. G., Gibbs H. A., Reid S. W. J., Horadagoda A., Edwards S. E. R., Eckersall P. D. (1999) Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation. *Veterinary Record* 144, 437–441
- Hudson W. R., Mead G. C., Hinton M. H. (1996) Relevance of abattoir hygiene assessment to microbial contamination of British beef carcasses. *Veterinary Record* 139, 587-589
- Hughes R. A., Cornblath D. R. (2005) Guillain-Barre syndrome. *Lancet* 366, 1653-1666
- Huzzey, J. M., Duffield T. F., LeBlanc S. J., Veira D. M., Weary D. M., von Keyserlingk M. A. G. (2009) Short communication: Haptoglobin as an early indicator of metritis. *Journal of Dairy Science* 92, 621-625
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) (1996). *Microorganisms in Foods 5. Characteristics of Microbial Pathogens*. Blackie Academic & Professional, London
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) (1998) Potential application of risk assessment techniques to microbiological issues related to international trade in food and food products. *Journal of Food Protection* 61, 1075-1086
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) (2002) *Microbiological Testing in Food Safety Management*. *Micro-organisms in Foods*, vol. 7. Kluwer Academic Publishing/Plenum, New York
- Inoue M., Satoh W., Murakami H. (1997) Plasma alpha 1-acid glycoprotein in chickens infected with infectious bursal disease virus. *Avian Diseases* 41, 164–170
- Itoh H., Tamura K., Izumi M., Motoi Y., Kidoguchi K., Funayama Y. (1993) The influence of age and health status on the serum alpha 1-acid glycoprotein level of conventional and specific pathogen-free pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research* 57, 74–78
- Izat A. L., Gardner F. A., Denton J. H., Golan F. A. (1988) Incidence and level of *Campylobacter jejuni* in broiler processing. *Poultry Science* 67, 1568–1572

- Jacobson M., Lindberg J.E., Lindberg R., Segerstad C.H., Wallgren P., Fellstrom C., Hulten C., Jensen-Waern M. (2001) Intestinal cannulation: Model for study of the midgut of the pig. *Comparative Medicine* 51, 163–170
- Jaykus L. (1996) The application of quantitative risk assessment to microbial food safety risks. *Critical Reviews in Microbiology* 22, 279–293
- Johnsen G., Wasteson Y., Heir E., Berget O. I., Herikstad H. (2001) *Escherichia coli* O157:H7 in faeces from cattle, sheep and pigs in the southwest part of Norway during 1998 and 1999. *International Journal of Food Microbiology* 65, 193-200
- Jouve J. L. (1994) HACCP as applied in the EEC. *Food Control* 5, 181-186
- Jouve J. L. (2002) Microbiological risk assessment (MRA): an introduction. In: Brown M. and Stringer M. (Ed.) *Microbiological risk assessment in food processing*. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, England
- Jungersen G., Jensen L., Riber U., Heegaard P.M.H., Petersen E., Poulsen J.S.D., Bille-Hansen V., Lind P. (1999) Pathogenicity of selected *Toxoplasma gondii* isolates in young pigs. *International Journal for Parasitology* 29, 1307–1319
- Kaferstein F., Abdussalam M. (1999) Food safety in the 21st century. *Bulletin of the World Health Organisation* 77, 347–351
- Kalac P. (1982) A review of some aspects of possible association between feeding of silage and animal health. *British Veterinary Journal* 138, 314-315
- Kang D. H., Siragusa G. R. (2002) Monitoring beef carcass surface microbial contamination with a luminescence-based bacterial phosphatase assay. *Journal of Food Protection* 65, 50-52
- Karreman H. J., Wentink G. H., Wensing T. (2000) Using serum amyloid A to screen dairy cows for sub-clinical inflammation. *Veterinary Quarterly* 22, 175–178
- Katoh N., Nakagawa H. (1999) Detection of haptoglobin in the high-density lipoprotein and the very high-density lipoprotein fractions from sera of calves with experimental pneumonia and cows with naturally occurring fatty liver. *Journal of Veterinary Medical Science* 61, 119–124
- Katoh N., Oikawa S., Oohashi T., Takahashi Y., Itoh F. (2002) Decreases of alipoprotein B-100 and A-I concentrations and induction of haptoglobin and serum amyloid A in nonfed calves. *The Journal of Veterinary Medical Science* 64, 51-55
- Kauffman L.F. (1974) How FDA Uses HACCP. *Food Technology* 51, 84
- Kent J. E., Goodall J. (1991) Assessment of an immunoturbidimetric method for measuring equine serum haptoglobin concentrations. *Equine Veterinary Journal* 23, 59–66 (citiran u Petersen *et al.*, 2004)

- Kim M. S., Lefcourt A. M., Chen Y. R. (2003) Optimal fluorescence excitation and emission bands for detection of fecal contamination. *Journal of Food Protection* 66: 1198-1207
- Kleeberg H. H. (1984) Human tuberculosis of bovine origin in relation to public health. *Revue Scientifique et Technique* 3, 11-32
- Knura-Deszczka S., Lipperheide C., Petersen B., Jobert J. L., Berthelot-Herault F., Kobisch M., Madec F. (2002) Plasma Haptoglobin Concentration in Swine After Challenge with *Streptococcus suis*. *Journal of Veterinary Medicine Series B* 49, 240–244
- Koohmaraie M., Arthur T. M., Bosilevac J. M., Guerini M., Shackelford S. D., Wheeler T. L. (2005) Post-harvest interventions to reduce/eliminate pathogens in beef. *Meat Science* 71, 79-91
- Koolmees P.A. (1999) The development of veterinary public health in Western Europe, 1850-1940. *Sartonia* 12, 153-179
- Kosmider R. D., Nally P., Simons R. R. L., Brouwer A., Cheung S., Snary E. L., Wooldridge M. (2010) Attribution of Human VTEC O157 Infection from Meat Products: A Quantitative Risk Assessment Approach. *Risk Analysis* 30, 753-765
- Kotula A. W., Dubey J. P., Sharar A. K., Andrews C. D., Shen S. K., Lindsay D. S. (1991) Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *Journal of Food Protection* 54, 687-690
- Kramer T. T., Griffith R. W., Saucke L. (1985) Iron and transferrin in acute experimental *Salmonella cholerae-suis* infection in pigs. *American Journal of Veterinary Research* 46, 451–455
- Kushner I. (1982) The Phenomenon of the Acute Phase Response. *Annals of the New York Academy of Science* 389, 39–47
- Kushner I., Mackiewicz A. (1987) Acute phase proteins as disease markers. *Disease Markers* 5, 1–11
- Lammerding A. M., Fazil A. (2000) Hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment. *International Journal of Food Microbiology* 58, 147–157
- Lampreave F., Gonzalez-Ramon N., Martinez- Ayensa S., Hernandez M.-A., Lorenzo H.-K., Garcia-Gil A., Pineiro A. (1994) Characterisation of the acute phase serum protein response in pigs, *Electrophoresis* 15, 672–676
- Lauritzen B., Lykkesfeldt J., Friis C. (2003) Evaluation of a single dose versus a divided dose regimen of Danofloxacin in treatment of *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in pigs. *Research in Veterinary Science* 74, 271–277

-
- Law J. H. (2002) Insects, oxygen, and iron. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 292, 1191–1195
- Ledue T. B., Rifai N. (2003) Preanalytic and analytic sources of variations in C-reactive protein measurement: Implications for cardiovascular disease risk assessment, *Clinical Chemistry* 49 1258–1271
- Lee W.-C., Hsiao H. C., Wu Y.-L., Lin J.-H., Lee Y.-P., Fung H.-P., Chen H.-H., Chen Y.-H., Chu R.-M. (2003) Serum C-reactive protein in dairy herds. *Canadian Journal of Veterinary Research* 67, 102–107
- Lee M. R. F., Theobald V. J., Theodorou M. K., Veberg Dahl A., Lundby F., Wold J. P. (2009) Spectroscopic imaging as a real-time solution for the detection of faecal contamination on carcasses. *Advancing Beef Safety through research and innovation - An international conference organised by ProSafeBeef*, Ashtown Food Research Conference Centre, Teagasc, Dublin, Ireland
- Le Floc'h N., Jondreville C., Matte J. J., Seve B. (2006) Importance of sanitary environment for growth performance and plasma nutrient homeostasis during the post-weaning period in piglets. *Archives in Animal Nutrition* 60, 23-34
- Lenahan M., O'Brien S., Kinsella K., Sweeney T., Sheridan, J. J. (2007) Prevalence and molecular characterisation of *Escherichia coli* O157:H7 on Irish lamb carcasses, fleece and in faeces samples. *Journal of Applied Microbiology* 103, 2401-2409
- Lightowers M. W., Rolfe R., Gauci C. G. (1996) *Taenia saginata*: vaccination against cysticercosis in cattle with recombinant oncosphere antigens. *Experimental Parasitology* 84, 330-338
- Lipperheide C., Diepers N., Lampreave F., Alava M., Petersen B. (1998) Nephelometric determination of haptoglobin plasma concentrations in fattening pigs. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 45, 543–550
- Lomborg S. R., Nielsen L.R., Heegaard M. H., Jacobsen S. (2008) Acute phase proteins in cattle after exposure to complex stress. *Veterinary Research Communications* 32, 575–582
- Longstreeth J.R., Udall N.D. (1997) Clean livestock at slaughter. *Veterinary Record* 140, 239
- Magnusson U., Wilkie B., Artursson K., Mallard B. (1999) Interferon-alpha and haptoglobin in pigs selectively bred for high and low immune response and infected with *Mycoplasma hyorhinitis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 68, 131–137
- Makimura S., Suzuki N. (1982) Quantitative determination of bovine serum haptoglobin and its elevation in some inflammatory diseases. *Japanese Journal of Veterinary Science* 44, 15–21

- Martin de la Fuente A. J., Carpintero R., Rodriguez Ferri E. F., Alava M. A., Lampreave F., Gutierrez Martin C. B. (2008) Acute-phase protein response in pigs experimentally infected with *Haemophilus parasuis*. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 33, 455-465
- McCarthy P. L., Frank A. L., Ablow R. C., Masters S. J., Dolan T. F. (1978) Value of C-reactive protein test in the differentiation of bacterial and viral pneumonia. *The Journal of Pediatrics* 92, 454-456
- McEvoy J. M., Doherty A. M., Finnerty M., Sheridan J. J., McGuire L., Blair I. S., McDowell D. A., Harrington, D. (2000) The relationship between hide cleanliness and bacterial numbers on beef carcasses at a commercial abattoir. *Letters in Applied Microbiology* 30, 390-395
- McMahon J., Kahn S., Batey R., Murray J. G., Moo D., Sloan C. (1987) Revised post-mortem inspection procedures for cattle and pigs slaughtered at Australian abattoirs. *Australian Veterinary Journal* 64, 183-187
- McNair J., Kennedy D. G., Bryson D. G., Reilly G. A., McDowell S. W., Mackie D. P. (1997) Evaluation of a competitive immunoassay for the detection of bovine haptoglobin. *Research in Veterinary Science* 63, 145-149
- McNair J., Elliott C., Bryson D. G., Mackie D. P. (1998) Bovine serum transferrin concentration during acute infection with *Haemophilus somnus*. *The Veterinary Journal* 155, 155-251
- Mead P. S., Griffin P. M. (1998) *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet* 352, 1207-1212
- Mead P. S., Slutsker L., Dietz V., McCaig L. F., Bresee J. S., Shapiro C., Griffin P. M., Tauxe R. V. (1999) Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Disease* 5, 607-625
- Meat Hygiene Service (MHS) (2002). MHS response to FSA report on the audit of the Meat Hygiene Service. Dostupno na <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/mhsauditresponse.pdf> (pristupljeno 15.3.2011.)
- Meat Hygiene Service (MHS) (2005) MHS manual for official controls
- Medema G. J., Teunis P. F. M., Havelar A. H., Haas C. N. (1996) Assessment of the dose response relationship for *Camylobacter jejuni*. *International Journal of Food Microbiology* 30, 101-111
- Medema G. J., Schijven J. F. (2001) Modelling the sewage discharge and dispersion of *Cryptosporidium* and *Giardia* in surface water. *Water Research* 35, 4307-4316.
- M'Fadyean J. (1895) The danger of tuberculous meat. *The Journal of Comparative Pathology and Therapeutics* 8, 237-239 (citiran u Edwards *et al.*, 1997)

- Mies P. D., Covington B. R., Harris K. B., Lucia L. M., Acuff G. R., Savell J. W. (2004) Decontamination of cattle hides prior to slaughter using washes with and without antimicrobial agents. *Journal of Food Protection* 67, 579-582
- Mills J. (2004) Microbiological Safety of Meats: *Yersinia enterocolitica*. In Jensen W.K., Devine C., Dikeman M. (Eds) *Encyclopaedia of Meat Sciences*, Vol. 2, Elsevier, Oxford, pp. 814-820
- Minnich S. A., Smith M. J., Weagant S. D., Feng P. (2001) *Yersinia*. In: Hui Y. H., Pierson M. D., Gorham J. R. (Eds.) *Foodborne Disease Handbook Second Edition, Revised and Expanded Volume 1: Bacterial Pathogens*. Marcel Dekker Inc., New York, USA, pp 472-514
- Moore J. E., Corcoran D., Dooley J. S., Fanning S., Lucey B., Matsuda M., McDowell D. A., Megraud F., Millar B. C., O'Mahony R., O'Riordan L., O'Rourke M., Rao J. R., Rooney P. J., Sails A., Whyte P. (2005) *Campylobacter*. *Veterinary Research* 36, 351–382
- Morrison W. I., Bourne F. J., Cox D. R., Donnelly C. A., Gettinby G., McInerney J. P., Woodroffe R. (2000) Pathogenesis and diagnosis of infections with *Mycobacterium bovis* in cattle. *Veterinary Record* 146, 236–242
- Morimatsu M., Sarikaputi M., Syotu B., Saito M., Yamamoto S., Naiki M. (1992) Bovine haptoglobin: single radial immunodiffusion assay of its polymeric forms and dramatic rise in acute-phase sera. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 33, 365–372
- Moser M., Pfister H., Bruckmaier R. M., Rehage J., Blum J. W. (1994) Blood serum transferrin concentration in cattle in various physiological states, in veal calves fed different amounts of iron, and in cattle affected by infectious and non-infectious diseases. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 41, 413–420
- Moshage H. (1997) Cytokines and the hepatic acute phase response. *Journal of Pathology* 181, 257-266
- Mousing J., Kyrval J., Jensen T. K., Aalbæk, Buttenschon J., Svensmark B., Willeberg P. (1997) Meat safety consequences of implementing visual postmortem meat inspection procedures in Danish slaughter pigs. *The Veterinary Record* 140, 472-477
- Murata H., Miyamoto T. (1993) Bovine haptoglobin as a possible immunomodulator in the sera of transported calves. *British Veterinary Journal* 149, 277–283
- Murata, H., Shimada, N., Yoshioka, M. (2004). Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The Veterinary Journal* 168, 28–40
- Murray G. (1986) Ante-mortem and post-mortem meat inspection: an Australian Inspection Service perspective. *Australian Veterinary Journal* 63, 211-215
- Nakagawa H., Yamamoto O., Oikawa S., Higushi H., Watanabe A., Katoh N. (1997) Detection of serum haptoglobin by enzyme-linked immunosorbent assay in cows with fatty liver. *Research in Veterinary Science* 62, 137–141

- Nakajima Y., Momotani E., Murakami T., Ishikawa Y., Morimatsu M., Saito M., Suzuki H., Yasukawa K. (1993) Induction of acute phase protein by recombinant human interleukin- 6 (IL-6) in calves. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 35, 385–391
- Nakamura K., Imai K., Tanimura N. (1996) Comparison of the effects of infectious bronchitis and infectious laryngotracheitis on the chicken respiratory tract. *Journal of Comparative Pathology* 114, 11–21
- Nakamura K., Mitarai Y., Yoshioka M., Koizumi N., Shibahara T., Nakajima Y. (1998) Serum levels of interleukin-6, alpha 1-acid glycoprotein, and corticosterone in two-week-old chickens inoculated with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Poultry Science* 77, 908–911
- Nastasijevic I., Mitrovic R., Buncic S. (2008) Occurrence of *Escherichia coli* O157 on hides of slaughtered cattle. *Letters in Applied Microbiology* 46, 126-131
- Nastasijevic I., Mitrovic R., Buncic S. (2009) The occurrence of *Escherichia coli* O157 in/on faeces, carcasses and fresh meats from cattle. *Meat Science* 82, 101-105
- Nauta M. J. (2000) Separation of uncertainty and variability in quantitative microbial risk assessment models. *International Journal of Food Microbiology* 57, 9-18
- Nauta M. J. (2002) Modelling bacterial growth in quantitative microbiological risk assessment: is it possible? *International Journal of Food Microbiology* 73, 297– 304
- Nauta M. J., Havelaar A. H. (2008) Risk-based standards for *Campylobacter* in the broiler meat chain. *Food Control* 19, 372-381
- Nazifi S., Rezakhani A., Moaddeli A., Zarifi M., Gheisari H. R. (2009) Study on diagnostic values of haptoglobin and serum amyloid A concentration in bovine heart diseases. *Comparative Clinical Pathology* 18, 47–51
- Nesbakken T., Eckner K., Hoidal H. K., Rotterud O. J. (2003) Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and consequences for meat inspection, slaughtering, and dressing procedures. *International Journal of Food Microbiology* 80, 231– 240
- Nielsen B., Wegener H. C. (1997) Public health and pork and pork products: regional perspectives of Denmark. *Revue Scientifique et Technique* 16, 513-524
- Nielsen B. H., Jacobsen S., Andersen P.H., Niewold T. A., Heegaard P. M. H. (2004) Acute phase protein concentrations in serum and milk from healthy cows, cows with clinical mastitis and cows with extramammary inflammatory conditions. *Veterinary Record* 154, 361–365
- Nieman R. E., Lorber B. (1980) Listeriosis in adults - A changing pattern: Report of eight cases and review of the literature, 1968-1978. *Reviews of Infectious Diseases* 2, 207-227

- Nikunen S., Härtel H., Orro T., Neuvonen E., Tanskanen R., Kivelä S. L., Sankari S., Aho P., Pyörälä S., Saloniemi H., Soveri T. (2007) Association of bovine respiratory disease with clinical status and acute phase proteins in calves. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 30, 143–151
- Nordic Council of Ministers (2006) Risk-based Meat Inspection in a Nordic Context. *TemaNord* 585, 53-54
- Norrung B., Buncic S. (2008) Microbial safety of meat in the European Union. *Meat Science* 78, 14-24
- Norrung B., Andersen J. K., Buncic S. (2009) Main Concerns of Pathogenic Microorganisms in Meat. In: Todra F. (Ed) *Safety of Meat and Processed Meat*. Springer, New York, USA, pp. 1-30
- Notermans S., Gallhoff G., Zweitering M. H., Mead G. C. (1995) The HACCP concept: specification of criteria using quantitative risk assessment. *Food Microbiology* 12, 81-90
- Notermans S., Teunis P.F.M. (1996) Quantitative risk analysis and the production of microbiologically safe food: an introduction. *International Journal of Food Microbiology* 30, 3–7
- Nou X. W., Rivera-Betancourt M., Bosilevac J. M., Wheeler T. L., Shackelford S. D., Gwartney B. L., Reagan J. O., Koohmaraie M. (2003) Effect of chemical dehairing on the prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and the levels of aerobic bacteria and *Enterobacteriaceae* on carcasses in a commercial beef processing plant. *Journal of Food Protection* 66, 2005–2009
- Nukina H., Sudo N., Aiba Y., Oyama N., Koga Y., Kubo C. (2001) Restraint stress elevates the plasma interleukin-6 levels in germ-free mice. *Journal of Neuroimmunology* 115, 46–52
- Olson S. K., Ethelberg S., van Pelt W., Tauxe R. V. (2008) Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in industrialised nations. In: *Campylobacter jejuni: Current and Future Trends*. Nachamkin I., Szymanski C. M., Blaser M. J. (Eds.). Herndon, VA: ASM Press, pp. 163–190
- Ohtsuka H., Kudo K., Mori K., Nagai F., Hatsugaya A., Tajima M., Tamura K., Hoshi F., Koiwa M., Kawamura S. (2001) Acute phase response in naturally occurring coliform mastitis. *The Journal of Veterinary Medical Science* 63, 675–678
- Onyango-Abuje J. A., Hughes G., Opicha M., Nginyi J., Rugutt M. K., Wright S. H., Harrison L. J. S. (1995) Diagnosis of *Taenia saginata* cysticercosis in Kenyan cattle by antibody and antigen ELISA. *Veterinary Parasitology* 61, 221-230
- Oosterom J., de Wilde G. J. A., de Boer E., de Blaauw L. H., Karman H. (1983) Survival of *Campylobacter jejuni* during poultry processing and pig slaughtering. *Journal of Food Protection* 46, 702–706

- Orro T., Pohjanvirta T., Rikula U., Huovilainen A., Alasuutari S., Sihvonen L., Pelkonen S., Soveri T. (2011) Acute phase protein changes in calves during an outbreak of respiratory disease caused by bovine respiratory syncytial virus. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 34, 23-29
- Ortiz Martinez P., Mylona S., Drake I, Fredriksson-Ahomaa M., Korkeala H., Corry J. E. L. (2010) Wide variety of bioserotypes of enteropathogenic *Yersinia* in tonsils of English pigs at slaughter. *International Journal of Food Microbiology* 139, 64–69
- Oscar T. P. (1998) The development of a risk assessment model for use in the poultry industry. *Journal of Food Safety* 18, 371–381
- Oscar T. P. (2004) Dose-Response Model for 13 Strains of *Salmonella*. *Risk Analysis* 24, 41-49
- Ostertag R. (1899) The use of flesh and milk of tuberculous animals. *The Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, 12, 240-50 (citiran u Edwards *et al.*, 1997)
- Ostroff S. M., Kapperud G., Hutwagner L. C., Nesbakken T., Bean N. H., Lassen J., Tauxe R. V. (1994) Sources of sporadic *Yersinia enterocolitica* infections in Norway: a prospective case-control study. *Epidemiology and Infection* 112, 133-141
- Pan American Health Organization (PAHO) (2003) Zoonoses and communicable diseases common to man and animals (3rd Ed.) Scientific and Technical Publication No. 580, Washington, USA
- Park S., Worobo R. W., Durst R. A. (1999) *Escherichia coli* O157:H7 as an emerging foodborne pathogen: a literature review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 39, 481-502
- Parra M. D., Fuentes P., Tecles F., Martinez-Subiela S., Martinez J. S., Munoz A., Ceron, J. J. (2006) Porcine acute phase protein concentrations in different diseases in field conditions. *Journal of Veterinary Medicine B* 53, 488–493
- Pallares F. J, Martinez-Subiela S., Seva J., Ramis G., Fuentes P., Bernabe A., Munoz A., Ceron J. J. (2008) Relationship between serum acute phase protein concentrations and lesions in finishing pigs. *The Veterinary Journal* 177, 369-373
- Pedersen L. H., Aalbæk B., Rontved C. M., Ingvartsen K. L., Sorensen N. S., Heegaard P. M. H., Jensen H. E. (2003) The initial pathogenesis and inflammatory response in experimental bovine mastitis due to *Streptococcus uberis*. *Journal of Comparative Pathology* 128, 156–164
- Peltola H. O. (1982) C-reactive protein for rapid monitoring of infections of the central nervous system. *Lancet* 1(8279), 980–982

- Pepys M. B., Baltz M. L. (1983) Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (Pentaxins) and serum amyloid A protein. *Advances in Immunology* 34, 141–212
- Petersen H. H., Nielsen J. P., Jensen A. L., Heegaard P. M. H. (2001) Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for determination of porcine haptoglobin. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 48, 513–523
- Petersen H. H., Dideriksen D., Christiansen B. M., Nielsen J. P. (2002) Haptoglobin serum concentration as marker of clinical signs in finishing pigs. *Veterinary Record* 151, 85–89
- Petersen H. H., Ersboll A. K., Jensen C. S., Nielsen J. P. (2002b) Serum-haptoglobin concentration in Danish slaughter pigs of different health status. *Preventive Veterinary Medicine* 54, 325-335
- Petersen H. H. , Nielsen J. P., Heegaard P. M. H. (2004) Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Veterinary Research* 35, 163–187
- Pfeffer A., Rogers K. M., O’Keeffe L., Osborn P. J. (1993) Acute phase protein response, food intake, liveweight change and lesions following intrathoracic injection of yeast in sheep. *Research in Veterinary Science* 55, 360–366
- Piercy D. W. T. (1979) Acute phase responses to experimental salmonellosis in calves and colibacillosis in chickens: serum iron and caeruloplasmin. *Journal of Comparative Pathology* 89, 309–319 (citiran u Murata *et al.*, 2004)
- Pineiro M., Pineiro C., Carpintero R., Morales J., Campbell F.M., Eckersall P. D., Toussaint M. J. M., Lampreave F. (2007) Characterisation of the pig acute phase protein response to road transport. *The Veterinary Journal* 173, 669–674
- Pinillos R. G., Jukes D. J. (2008) Hygiene assessment system (HAS) scores – An analysis of the available data from English slaughterhouses. *Food Control* 19, 806-816
- Pires S. M., Vigre H., Makela P., Hald T. (2010) Using Outbreak Data for Source Attribution of Human Salmonellosis and Campylobacteriosis in Europe. *Foodborne Pathogens and Disease* 7, 1351-1361
- Pirlot A., Janssens J., Skinner G., Godeau J. M. (1999) Quantitative determination of haptoglobin (HAP) in human and bovine sera by capillary zone electrophoresis (CZE). *Veterinary Research* 30, 483–493
- Pointon A. M., Hamilton D., Kolega V., Hathaway S. (2000) Risk assessment of organoleptic postmortem inspection procedures for pigs. *Veterinary Record* 146, 124-131
- Pointon A., Jenson I., Jordan D., Vanderlinde P., Slade J., Sumner J. (2006) A risk profile of the Australian red meat industry: Approach and management. *Food Control* 17, 712–718

- Powell M. R. (2000) Dose-response envelope for *Escherichia coli* O157:H7. *Quantitative Microbiology* 2, 141-163
- Pradel N., Livrelli V., De Champs C., Palcoux J.B., Reynaud A., Scheutz F., Sirot J., Joly B., Forestier C. (2000) Prevalence and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle, food, and children during a one-year prospective study in France. *Journal of Clinical Microbiology* 38, 1023–1031
- Puckett R.P., Schneider G. (1997) Keeping it clean, playing it safe: What the HACCP program is all about. *Journal of the American Dietetic Association* 97, 125
- Radostits O. M., Gay C. C., Hinchcliff K. W., Constable P. D. (2007) *Veterinary Medicine - A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats* 10th Ed. Elsevier Ltd.
- Reid C.-A., Small A., Avery S. M., Buncic S. (2002) Presence of foodborne pathogens on cattle hides. *Food Control* 13, 411–415
- Rey J., Blanco J. E., Blanco M., Mora A., Dahbi G., Alonso J. M., Hermoso M., Hermoso J., Alonso M. P., Usera M. A., Gonzalez E. A., Bernardez M. I., Blanco J. (2003) Serotypes, phage types and virulence genes of shiga-producing *Escherichia coli* isolated from sheep in Spain. *Veterinary Microbiology* 94, 47-56
- Ridell J., Korkeala H. (1993) Special treatment during slaughtering in Finland of cattle carrying an excessive load of dung: meat hygiene aspects. *Meat Science* 35, 223-228
- Ropkins K., Beck A. J. (2000) Evaluation of worldwide approaches to the use of HACCP to control food safety. *Trends in Food Science and Technology* 11, 10-21
- Rosenquist H., Nielsen N. L., Sommer H. M., Norrung B., Christensen B. B. (2003) Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis associated with thermophilic *Campylobacter* species in chickens. *International Journal of Food Microbiology* 83, 87–103
- Rossel R., Jouffe L., Beloeil P. A. (2009) Analysis of factors associated with *Salmonella* isolation on pork carcass using Bayesian networks. *Journées de la recherche porcine* 41, 43-48
- Saini P. K., Webert D. W. (1991) Application of acute phase reactants during antemortem and postmortem meat inspection. *Journal of American Veterinary Medical Association* 198, 1898–1901
- Saini P. K., Riaz M., Webert D. W., Eckersall P. D., Young C. R., Stanker L. H., Chakrabarti E., Judkins J. C. (1998) Development of a simple enzyme immunoassay for blood haptoglobin concentration in cattle and its application in improving food safety. *American Journal of Veterinary Research* 59, 1101–1107
- Salonen E. M., Vaheri A. (1981) C-reactive protein in acute viral infections. *Journal of Medical Virology* 8, 161–167

-
- Salonen M., Hirvonen J., Pyorala S., Sankari S., Sandholm M. (1996) Quantitative determination of bovine serum haptoglobin in experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. *Research in Veterinary Science* 60, 88–91
- Schlundt J., Toyofuku H., Jansen J., Herbst S. A. (2004) Emerging food-borne zoonoses. *Revue Scientifique et Technique* 23, 513–533
- Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health (SCVPH) (1999) The evaluation of microbiological criteria for food products of animal origin for human consumption. Adopted on 23 September 1999
- Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health (SCVPH) (2000a). Opinion on "the revision of meat inspection procedures", adopted on 24 February 2000
- Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health (SCVPH) (2000b). Opinion on "The control of taeniosis/cysticercosis in man and animals", adopted on 27-28 September 2000
- Scientific Committee for Veterinary Measures relating to Public Health (SCVPH) (2001) Trichinellosis, epidemiology, methods of detection and *Trichinella* – free pig production. European Commission, Brussels, 47 pp.
- Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health (SCVPH) (2003) Opinion on revision of meat inspection in veal calves, adopted on 14-15 April 2003
- Schlundt J. (1999) Principles of food safety Risk management. *Food Control* 10, 299-302
- Segales J., Pineiro C., Lampreave F., Nofrarias M., Mateu E., Calsamiglia M., Andres M., Morales J., Pineiro M., Domingo M. (2004) Haptoglobin and pig-major acute protein are increased in pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Veterinary Research* 35, 275–282
- Sellmayer A., Limmert T., Hoffmann U. (2003) High sensitivity C-reactive protein in cardiovascular risk assessment – CRP mania or useful screening? *International Angiology* 22, 15–23
- Sheldon I. M., Noakes D. E., Rycroft A., Dobson H. (2001) Acute phase protein responses to uterine bacterial contamination in cattle after calving. *Veterinary Record* 148, 172–175
- Siragusa G. R., Cutter C. N., Dorsa W. J., Koohmaraie M. (1995) Use of a rapid microbial ATP bioluminescence assay to detect contamination on beef and pork carcasses. *Journal of Food Protection* 58, 770-775
- Skinner J. G., Brown R. A. L., Roberts L. (1991) Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions. *Veterinary Record* 128, 147–149

-
- Skirrow M. B., Blaser M. J. (2000) Clinical aspects of *Campylobacter* infection. In *Campylobacter*. Nachamkin I., Blaser M. J., (Eds.), 2nd Ed. ASM Press, Washington, DC, pp. 69-88
- Small A., Reid C.-A., Buncic S. (2003) Conditions in lairages at abattoirs for ruminants in southwest England and in vitro survival of *Escherichia coli* O157, *Salmonella* Kedougou, and *Campylobacter jejuni* on lairage-related substrates. *Journal of Food Protection* 66, 1570–1575
- Small A., Wells-Burr B., Buncic S. (2004). An evaluation of selected methods for the decontamination of cattle hides prior to skinning. *Meat Science* 69, 263-268
- Smith B. I., Donovan G. A., Risco C., Young C., Stanker L. H. (1998a) Serum haptoglobin concentrations in Holstein dairy cattle with toxic puerperal metritis. *Veterinary Record* 142, 83–85
- Smith B. I., Donovan G. A., Risco C., Littell R., Young C., Stanker L. H., Elliott J. (1998b) Comparison of various antibiotic treatments for cows diagnosed with toxic puerperal metritis. *Journal of Dairy Science* 81, 1555–1562
- Smith B. I., Kauffold J., Sherman L. (2009) Serum haptoglobin concentrations in dairy cattle with lameness due to claw disorders. *The Veterinary Journal* 186, 162-165
- Snijders J. M. A., van Knapen F. (2002) Prevention of human diseases by an integrated quality control system. *Livestock Production Science* 76, 203-206
- Sofos J. N., Kochevar S. L., Bellinger G. R., Buege D. R., Hancock D. D., Ingham S. C., Morgan J. B., Reagan J. O., Smith, G. C. (1999). Sources and extent of microbiological contamination of beef carcasses in seven United States slaughtering plants. *Journal of Food Protection* 62, 140-145
- Sorensen F., Petersen J. V. (1999) Survey of numbers and types of lesions detectable in pig heads and the implications for human and animal health. *Veterinary Record* 145, 256-258
- Sorensen N. S., Tegtmeier C., Andresen L. O., Pineiro M., Toussaint M. J. M., Campbell F. M., Lampreave F., Heegaard P. M. H. (2006) The porcine acute phase protein response to acute clinical and subclinical experimental infection with *Streptococcus suis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 113, 157–168
- Stadler P., Nesbit J. W. (1990) Salmonellosis in an adult dairy cow. *Journal of American Veterinary Medical Association* 61, 165-167
- Stanley K., Jones K. (2003) Cattle and sheep farms as reservoirs of *Campylobacter*. *Journal of Applied Microbiology* 94, Supplement 104S–113S
- Suffredini A. F., Fantuzzi G., Badolato R., Oppenheim J. J., O’Grady N. (1999) New insights into the biology of the acute phase response. *Journal of Clinical Immunology* 19, 203–214

-
- Suojala L., Orro T., Järvinen H., Saatsi J., Pyörälä S. (2008) Acute phase response in two consecutive experimentally induced *E. coli* intramammary infections in dairy cows. *Acta Veterinaria Scandinavica* 50:18
- Swanenburg M., van der Wolf P. J., Urlings H. A., Snijders J. M., van Knapen F. (2001) Salmonella in slaughter pigs: The effect of logistic slaughter procedures of pigs on the prevalence of Salmonella in pork. *International Journal of Food Microbiology* 70, 231–242
- Takahashi E., Uzuka Y., Tanabe S., Satoh M., Furuoka H. (2007) Serum amyloid A and haptoglobin levels in bovine amyloidosis. *The Journal of Veterinary Medical Science* 69, 321-323
- Takahashi K., Miyake N., Ohta T., Akiba Y., Tamura K. (1998) Changes in plasma alpha 1-acid glycoprotein concentration and selected immune response in broiler chickens injected with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *British Poultry Science* 39, 152–155
- Teunis P. F. M., Havelaar A. H. (2000) The beta poisson dose-response model is not a single-hit model. *Risk Analysis* 20, 513-20
- Teunis P., Takumi K., Shinagawa K. (2004) Dose Response for Infection by *Escherichia coli* O157:H7 from Outbreak Data. *Risk Analysis* 24, 401-407
- Tenter A. M., Heckeroth A. R., Weiss L. M. (2000) *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal of Parasitology* 30, 1217-1258
- Tillett W. S., Francis T. (1930) Serological reactions in pneumonia with non-protein somatic fraction of pneumococcus. *The Journal of Experimental Medicine* 52, 561-571 (Citiran u Eckersall, 2000)
- Tourlomoussis P., Eckersall P. D., Waterson M. M., Buncic S. (2004) A comparison of acute phase protein measurements and meat inspection findings in cattle. *Foodborne Pathogens and Disease* 1, 281-290
- Toussaint M. J. M., van Ederen A. M., Gruys E. (1995) Implication of clinical pathology in assessment of animal health and in animal production and meat inspection. *Comparative Haematology International* 5 149–157
- Toussaint M. J. M., Campbell F. M., Pineiro M., Gruys E. (2005) Measuring negative acute phase proteins to assess acute phase response and starvation. 5th International Colloquium on Animal Acute Phase Proteins, Dublin, Ireland
- Uhlar C. M., Whitehead A. S. (1999) Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *European Journal of Biochemistry* 265, 501–523
- Urdahl A. M., Beutin L., Skjerve E., Zimmermann S., Wasteson Y. (2003) Animal host associated differences in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from sheep and cattle on the same farm. *Journal of Applied Microbiology* 95, 92–101
-

USDA (1999) Guidebook for the Preparation of HACCP Plans. Washington, USA

Uzal F. A., More S. J., Dobrenov B., Kelly W. R. (2002) Assessment of organoleptic postmortem inspection techniques for bovine offal. *Australian Veterinary Journal* 80, 70-74

Van Damme I., Habib I., De Zutter L. (2010) *Yersinia enterocolitica* in slaughter pig tonsils: Enumeration and detection by enrichment versus direct plating culture. *Food Microbiology* 27, 158–161

Van Donkersgoed J., Janzen E. D., Chirino-Trejo M., Berry C., Clark E. G., Haines D. M. (1990) *Campylobacter jejuni* abortions in two beef cattle herds in Saskatchewan. *Canadian Veterinary Journal* 31, 373–377

Van Donkersgoed J., Jericho K. W. F., Grogan H., Horlakson B. (1997) Preslaughter hide status of cattle and the microbiology of carcasses. *Journal of Food Protection* 60, 1502-1508.

Van Donkersgoed J., Graham T., Gannon V. (1999) The prevalence of verotoxins, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in the feces and rumen of cattle at processing. *Canadian Veterinary Journal* 40, 332-338

Van Gerwen S. J., Zwietering M. H. (1998) Growth and inactivation models to be used in quantitative risk assessments. *Journal of Food Protection* 61, 1541– 1549

Vela A. R., Fernandez J. M. (2003) Barriers for the development and implementation of HACCP plans: Results from a Spanish regional survey. *Food Control* 14, 333–337

Vivas Alegre L., Buncic S. (2004) Potential for use of hide-carcass microbial counts relationship as an indicator of process hygiene performance of cattle abattoirs, *Food Protection Trends* 24, 814–821

Vose D. J. (2000) *Risk Analysis – A Quantitative Guide*. 2nd Edition, John Wiley & Sons Ltd, Chichester

Vreugdenhil A. C., Dentener M. A., Snoek A. M., Greve J. W., Buurman W. A. (1999) Lipopolysaccharide binding protein and serum amyloid A secretion by human intestinal epithelial cells during the acute phase response. *Journal of Immunology* 163, 2792–2798

Wagener F. A., Eggert A., Boerman O. C., Oyen W. J., Verhofstad A., Abraham N. G., Adema G., Van Kooyk Y., De Witte T., Figdor C. G. (2001) Heme is a potent inducer of inflammation in mice and is counteracted by heme oxygenase. *Blood* 98, 1802–1811

Webel D. M., Finck B. N., Baker D. H., Johnson R. W. (1997) Time course of increased plasma cytokines, cortisol, and urea nitrogen in pigs following intraperitoneal injection of lipopolysaccharide. *Journal of Animal Science* 75, 1514–1520.

- Whiting R. C. (1995) Microbial modeling in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 35, 467–494
- Whiting R. C., Buchanan R. L. (1997) Development of a quantitative risk assessment model for *Salmonella enteritidis* in pasteurized liquid eggs. *International Journal of Food Microbiology* 36, 111–125
- Wilhelm B., Rajic A., Greig J. D., Waddell L., Harris J. (2011) The Effect of Hazard Analysis Critical Control Point Programs on Microbial Contamination of Carcasses in Abattoirs: A Systematic Review of Published Data. *Foodborne Pathogens and Disease* 8, 949-960
- Willis W. L., Murray C. (1997) *Campylobacter jejuni* seasonal recovery observations of retail market broilers. *Poultry Science* 76, 314–317
- Wilson A. (1998) *Wilson's Practical Meat Inspection*, 6th Ed. Blackwell Science Ltd, UK
- Wray C., McLaren I.M., Carroll P.J. (1993) *Escherichia coli* isolated from farm animals in England and Wales between 1986 and 1991. *Veterinary Record* 133, 439–442
- Wuthe H. H., Aleksic S., Kwapil S. (1995) *Yersinia* in the European brown hare of northern Germany. *Contributions to Microbiology and Immunology* 13, 51-54
- World Trade Organisation (WTO) (1994) The WTO agreement on the application of sanitary and phytosanitary measures (SPS Agreement). The WTO agreement on Technical Barriers to Trade
- Xie H., Newberry L., Clark F. D., Huff W. E., Huff G. R., Balog J. M., Rath N. C. (2002) Changes in serum ovotransferrin levels in chickens with experimentally induced inflammation and diseases. *Avian Diseases* 46, 122–131
- Yoshino K., Katoh N., Takahashi K., Yuasa A. (1992) Purification of a protein from serum of cattle with hepatic lipidosis and identification of the protein as haptoglobin. *American Journal of Veterinary Research* 53, 951–956
- Young C.R., Eckersall P.D., Saini P.K., Stanker L.H. (1995) Validation of immunoassays for bovine haptoglobin. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 49, 1–13
- Zwietering M. H. (2005) Practical considerations on food safety objectives. *Food Control* 16, 817-823