

# PRIMJENA SEROLOGIJE MESNOG SOKA U INSPEKCIJI MESA

---

**Kosmina, Tin Augustin**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2021**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:926735>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-10**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -  
Repository of PHD, master's thesis](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET**

**Tin Augustin Kosmina**

**PRIMJENA SEROLOGIJE MESNOG SOKA U INSPEKCIJI MESA**

**Diplomski rad**

**Zagreb, 2021.**

VETERINARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU  
ZAVOD ZA HIGIJENU, TEHNOLOGIJU I SIGURNOST HRANE

Predstojnik: izv. prof. dr. sc. Nevijo Zdolec

Mentor:

1. Izv. prof. dr. sc. Nevijo Zdolec

Članovi povjerenstva:

1. Dr. sc. Tomislav Mikuš
2. Prof. dr. sc. Vesna Dobranić
3. Izv. prof. dr. sc. Nevijo Zdolec

*Zahvaljujem se mentoru izv. prof. dr. sc. Neviju Zdolecu na stručnom vodstvu, strpljenju i susretljivosti prilikom izrade ovog diplomskog rada.*

*Zahvaljujem se roditeljima, majci Maji i ocu Želimiru te braći Igoru i Domagoju te svojim prijateljima koji su mi svojom podrškom i strpljenjem pomogli u ostvarenju životnih ciljeva.*

## **Popis kratica**

**CI (eng. confidence intervals)** – interval pouzdanosti

**ECDC (eng. European Centre for Disease Prevention and Control)** - Europski centar za prevenciju i kontrolu bolesti

**EFSA (eng. European Food Safety Authority)** – Europska agencija za sigurnost hrane

**ELISA (eng. Enzyme-linked immunosorbent assay)** – Enzimski povezani imunosorbentni test

**EU** – Europska unija

**FAO (eng. Food and Agriculture Organization)** - Organizacija za prehranu i poljoprivedu

**FCI (eng. Food Chain Information)** – Informacije o prehrambenom lancu

**HEV** – Hepatitis E virus

**LPS (eng. lipopolysaccharide)** – Lipopolisaharid

**OD (eng. optical density)** – optička gustoća

**RB-MSAS (eng. risk based – meat safety assurance system)** – Sustav osiguranja sigurnosti mesa utemeljen na riziku

**RNA (eng. ribonucleic acid)** – ribonukleinska kiselina

**WHO (eng. World Health Organization)** - Svjetska zdravstvena organizacija

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>2</b>
<b>2.1. <i>Toxoplasma gondii</i>.....</b>	<b>2</b>
2.1.1. Serologija mesnog soka preživača.....	2
2.1.2. Serologija mesnog soka svinja.....	5
2.1.3. Serologija mesnog soka divljih svinja.....	7
<b>2.2. <i>Salmonella</i> spp.....</b>	<b>9</b>
2.2.1. Serologija mesnog soka svinja.....	9
2.2.2. Serologija mesnog soka divljih svinja.....	11
2.2.3. Serologija mesnog soka preživača.....	13
<b>2.3. <i>Yersinia</i> spp.....</b>	<b>14</b>
2.3.1. Serologija mesnog soka svinja.....	14
2.3.2. Serologija mesnog soka divljih svinja.....	16
<b>2.4. Hepatitis E virus.....</b>	<b>17</b>
2.4.1. Serologija mesnog soka svinja.....	17
2.4.2. Serologija mesnog soka divljih svinja.....	19
<b>3. RASPRAVA.....</b>	<b>20</b>
<b>4. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>23</b>
<b>5. LITERATURA.....</b>	<b>24</b>
<b>6. SAŽETAK.....</b>	<b>35</b>
<b>7. SUMMARY.....</b>	<b>36</b>
<b>8. ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>37</b>

## 1. UVOD

Inspekcija mesa kao veterinarska javnozdravstvena disciplina ima važnu ulogu u zaštiti zdravlja ljudi, životinja i okoliša (ZDOLEC i sur., 2013.). Sigurnost mesa može biti ugrožena mnogim biološkim, kemijskim i fizičkim opasnostima, međutim općeprihvaćeno je da biološke opasnosti predstavljaju najveći rizik za potrošače mesa (NORRUNG i BUNČIĆ, 2008.; POINTON i sur., 2006.). U cijelom svijetu, veterinarske vlasti suočene su s problemom nadzora, inspekcije i kontrole sigurnosti hrane, zdravlja i dobrobiti životinja, uglavnom zbog oskudnih resursa i brojnih izazova. Stoga se traže isplativi načini, vrednovanjem pojedinih dijelova datog programa nadzora (ALBAN i sur., 2021.).

Analiza rizika sigurnosti hrane koristi se za procjenu rizika za javno zdravstvo od opasnosti koje se prenose hranom, identificiranje i provođenje odgovarajućih mjera upravljanja rizicima kako bi se ti rizici smanjili (FAO/WHO, 2007.). S obzirom na potencijalno visoke troškove povezane s provođenjem procjene rizika i/ili provedbom odluka o upravljanju rizicima, rangiranje rizika (kao preliminarna aktivnost upravljanja rizicima) prepoznata je kao odgovarajuće polazište za postavljanje prioriteta na temelju rizika i raspodjelu sredstava (EFSA, 2012.). Danas postoje dvije glavne strategije u klaonicama za kontrolu rizika od prijenosa bolesti mesom, a to su službeni pregled mesa i higijena procesa (BLAGOJEVIĆ i ANTIĆ, 2014.). Podaci o razinama seroprevalencije unutar stada mogu se koristiti za mjerenje performansi i kategorizaciju rizika farmi svinja i mogu imati utjecaj na odluke subjekata u poslovanju s hranom koji se tiču npr. korištenja mesa za sirove svinjske proizvode. Nadalje, takve se informacije mogu primijeniti u okviru intervencija za sigurnost hrane prije klanja za smanjenje pojave zoonotskih patogena na razini stada (MEEMKEN i sur., 2014.).

Stoga je cilj ovoga preglednog diplomskog rada primjenom serologije mesnog soka prikazati prevalenciju uzročnika u stadu kako bi se pokazao potencijal serologije u inspekciji mesa i kontroli rizika za najznačajnije uzročnike prenosive u lancu proizvodnje mesa. Među njima u ovome radu izdvojili smo *Toxoplasma gondii*, *Salmonella* spp. *Yersinia* spp. i hepatitis E virus.

## 2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

Inspekcija mesa dugi je niz godina važan segment veterinarske djelatnosti u cijelom svijetu, pa tako i u Europskoj uniji. Suvremeni koncepti u kontroli mesa obuhvaćaju cijeli proizvodni lanac od farme do klaonice čime se nadograđuje tradicionalni pristup inspekcije mesa (ante mortem, post mortem pregledi) (ZDOLEC i sur., 2013.). Podaci o lancu prehrane i harmonizirani epidemiološki indikatori su pri tome od velikog značaja, no oni trenutno ne obuhvaćaju sve relevantne biološke opasnosti u higijeni mesa (BUNČIĆ i sur., 2019.; ZDOLEC, 2017.). Jedan od elemenata kategorizacije farmi prema riziku u okviru sustava osiguravanja sigurnosti mesa je serološko profiliranje farmskih životinja pri čemu se umjesto uzorkovanja krvi na farmama može koristiti praktičnije uzorkovanje pri iskrvarenju klaonicama ili pak uzorkovanje mišićja (najčešće ošita). Serologija mesnog soka se u istraživanjima prevalencije može koristiti, između ostalih patogena, i za *Toxoplasma gondii*, *Salmonella* spp. *Yersinia* spp. i hepatitis E virus što je pobliže opisano u ovom radu.

### 2.1. *Toxoplasma gondii*

*Toxoplasma gondii* je ubikvitarni, protozoalni intracelularni parazit proširen po cijelom svijetu. Može invadirati brojne životinjske vrste te je značajan zoonotski uzročnik. Simptomi se mogu očitovati u obliku encefalitisa, sistemskih infekcija u imunokompromitiranih jedinki te u kongenitalnih infekcija može se očitovati i abortusom. Konzumacija nedovoljno termički obrađenog mesa, osobito svinjetine i janjetine je glavni izvor infekcije (WEISS i DUBEY, 2009.). Kongenitalni prijenos i transplantacija organa također su mogući načini infekcije (MONTROYA i LIESENFELD, 2004.).

#### 2.1.1. Serologija mesnog soka preživača

Toksoplazmoza je značajan javnozdravstveni problem u cijelom svijetu uključujući EU (EFSA - ECDC, 2018.). Među nekoliko načina prijenosa, najčešći je konzumacija proizvoda životinjskog podrijetla koja sadrži ciste s bradizoitima ili druga hrana kontaminirana oocistama (DJURKOVIĆ-DJAKOVIĆ i sur., 2019.). Proizvodi malih preživača jedan su od glavnih izvora toksoplazmoze u nekim zemljama i među određenim etničkim skupinama gdje je konzumacija nedovoljno kuhanog mesa dio kulture i tradicije. Serologija mesnog soka i molekularna analiza pokazala su cirkulaciju *T. gondii* u ovaca i koza namijenjenih prehrani ljudi te prisutnost patogena



u mišićima. Potrošnja sirovog ili nedovoljno termički obrađenog mesa ovaca i koza i proizvoda od njega (npr. kobasice, salama) potvrđen kao mogući izvor infekcije *T. gondii* kod ljudi (KIJLSTRA i JONGERT, 2008.). S obzirom na visoke pretpostavljene vrijednosti seroprevalencije kod malih preživača, GAZZONIS i sur. (2020.) proveli su serološko pretraživanje mesnog soka na protutitijela za *T. gondii* s ciljem prikupljanja epidemioloških podataka i procjene rizika konzumacije ovčjeg i kozjeg mesa. Uzimali su uzorke srca ili ošita koji su smržavani pa odmržavani radi ekstrakcije mesnog soka. Sve uzorkovane koze potjecale su iz stada uzgojenih u Italiji, dok je dio ovaca (111 životinja) bilo je iz drugih europskih zemalja (55 iz Velike Britanije, 29 iz Grčke i 27 iz Rumunjske). Protutijela su pronađena u 28,4 % pregledanih životinja (79 od 278), sa sličnim vrijednosti prevalencije kod ovaca (28,6 %) i koza (27,5). Kod koza slične vrijednosti dobivene su i kod mladih i odraslih životinja (6,9 % i 4,5 %), dok je veća razlika bila zabilježena između odraslih ovaca i janjadi (38,2 % i 1 %). Statistička analiza pokazala je da je seropozitivnost povezana s dobi i interakcijom između vrste i starosti. Uglavnom, odrasle životinje su imale veći rizik od infekcije nego mlade.

Starost je jedan od rizičnih čimbenika povezanih s infekcijom *T. gondii*, povećavajući rizik od horizontalnog prijenosa (SPIŠÁK i sur., 2010.; BERGER-SCHOCH i sur., 2011.; IOVU i sur., 2012.; HALOVÁ i sur., 2012.; LOPES i sur., 2013.; GAZZONIS i sur., 2015.).

BERGER-SCHOCH i sur. (2011.) istraživali su prevalenciju *T. gondii* primjenom imali su P-30-ELISA testa u uzorcima mesnog soka ošita u goveda različitih dobnih kategorija. Životinje su odabrane i kategorizirane prema dobnim skupinama i uvjetima držanja, kako slijedi: krave (> 2 godine starosti), bikovi (> 11 mjeseci starosti), junice (8 mjeseci - 2 godine), telad (5-7 mjeseci starosti). Uzorci ošita (približno 22 grama po životinja) prikupljeni su između travnja 2006. i prosinca 2008. godine iz pet najvećih švicarskih klaonica koje primaju životinje iz svih regija Švicarske.

Ukupno je 53,1 % (69 od 130) krava, 62,0 % (62 od 100) bikova, 37,2 % (48 od 129) junica i 12,8 % (6 od 47) teladi bilo seropozitivno na *T. gondii*. Telad je imala značajno nižu seroprevalenciju od ostalih skupina ( $P < 0,001$ ), a junice značajno nižu od bikova ( $P = 0,003$ ), ali nakon Bonferronijeve korekcije pokazala se samo sklonost nižoj seroprevalenciji u odnosu na krave ( $P = 0,013$ ) (BERGER-SCHÖCH i sur., 2011.).

Ukupna procjena seroprevalencije *T. gondii* krava i bikova je općenito bila visoka (> 50%). Ipak, ovaj broj ne predstavlja opasnost za populaciju jer seropozitivna životinja ne mora nužno sadržavati aktivne ciste tkiva s infektivnim parazitima (DE A DOS SANTOS i sur., 2005; HALOS i sur., 2009.). Unatoč tome, seropozitivan status u biljojeda dokaz je kontakta između domaćina i oociste *T. gondii*, osim u vrlo mladih životinja koje mogu imati majčinska protutijela prenatalno ili kolostralno te stoga zasigurno predstavlja pouzdan pokazatelj za ekološko opterećenje oocistama *T. gondii*. Povećan pristup pašnjacima može barem djelomično objasniti povećanu seroprevalenciju. Statistički značajno povećanje seroprevalencija krava i bikova također može odražavati povećano onečišćenje okoliša (uglavnom hrane) mjesta proizvodnje ili skladištenja i pašnjaka s oocistama *T. gondii* mačjim fecesom. Jasno je da seroprevalencija raste sa starosti zaklanih životinja. Trudnice i druge osjetljive kategorije ljudi bi stoga trebali biti na oprezni pri pripremi i konzumaciji mesa i trebaju se pobrinuti da se strogo pridržavaju preporuka o higijeni i sigurnosti hrane, poput pranja ruku nakon pripreme mesa i jest samo dobro pečeno meso.

### 2.1.2. Serologija mesnog soka svinja

Konvencionalne mikrobiološke metode dokazivanja *Salmonella* spp. i enteropatogene *Yersinia* spp. su dugotrajne, dok za *T. gondii* ne postoji odgovarajuća praktična metoda za izravno otkrivanje (BASSO i sur., 2013.). Umjesto toga, ovi se patogeni mogu otkriti neizravnim metodom ELISA-e koja je brza, osjetljiva i jednostavna za izvođenje. Prisutnost protutijela na određeni patogen ukazuje na to da je životinja bila izložena patogenu u nekoj fazi života, iako seropozitivna životinja možda više nije zarazna. (NIELSEN i sur., 1995., 1996.). Primjerice, FELIN i sur. (2015.) su proveli istraživanje kojemu je bio cilj procijeniti prisutnost protutijela u mesnom soku svinja i procijeniti izvedivost metode u klaonici i upotrebljivost rezultata kao dijela informacija o prehrambenom lancu (FCI).

Uzorci ošita od 1353 svinja na liniji klanja prikupljeni su u razdoblju od studenog 2012. do travnja 2013. godine kod klanja. Svinje su potjecale s 259 konvencionalnih farmi koje su dodijeljene prema vrste farmi: velike farme tova ( $\geq 1000$  svinja), male farme tova ( $<1000$  svinja) i integrirane farme. Uzorci su nasumično prikupljeni iz dvije klaonice koji primaju životinje iz cijele Finske. Otprilike 75 % svinja u Finskoj je zaklano u ove dvije klaonice. Farmu je u prosjeku predstavljalo 5 (raspon 3–15) svinja.

Uzorci ošita (oko 10 g mišića iz dijafragme) zamrzavani su pri  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , te potom odmrznuti i mehanički stisnuti. Dobiveni mesni sok pohranjen je na  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  do ispitivanja i odmrznut prije analize, zatim ponovno zamrznuti radi moguće ponovne analize. Uzorci mesnog soka ispitani su, koristeći komercijalne ELISA setove prikladne za svinjski mesni sok. Ukupno je 3 % svinja podrijetlom s 9 % farmi bilo seropozitivno na *T. gondii*. Svinje podrijetlom s malih tovnih farmi pokazale su značajno veću seroprevalencija *T. gondii* od svinja iz drugih tipova farmi ( $p \leq 0,002$ ). Kad su *Toxoplasma* seropozitivne svinje pronađene na malim tovnim farmama, uvijek je više od jedne svinje bilo pozitivno, a za tri farme sve testirane svinje ( $n = 5$ ) bile su pozitivne.

S obzirom na to da su u ovom radu testirani tovljenici koji su uzgojeni u zatvorenom prostoru, broj pozitivnih rezultata bio je iznenađujuće visok. Ukupno je 9 % farmi bilo seropozitivno na toksoplazmu, što je više nego na intenzivnim farmama u Nizozemskoj (KIJLSTRA i sur., 2004; VAN DER GIESSEN i sur., 2007).

Zanimljivo je da su na tri male farme tova svi uzorci (pet po farmi) bili pozitivni, što ukazuje na to da mjere biosigurnosti na tim farmama nisu uspjele. Svinje s ove tri farme nemaju pristup otvorenom prostoru. Nedavno istraživanje u Finskoj pokazalo je da se povećanjem veličine farmi postiže bolja biosigurnost u svim tipovima proizvodnje (SAHLSTRÖM i sur., 2014.). Najvjerojatniji izvori infekcije kod zatvorenog tipa uzgoja svinja su izmet mačaka ili glodavci (KIJLSTRA i sur., 2008.; DUBEY, 2009.). U istraživanju FELIN i sur. (2015.) postojala je pozitivna korelacija ( $p < 0,05$ ) između seropozitivnosti svinja za *Salmonella* spp. i *T. gondii*. Ovaj nalaz može odražavati razinu biosigurnosti na farmama, osobito zato što su obje infekcije relativno rijetke kod svinja u Finskoj, a divlji glodavci mogu poslužiti kao vektori za oba patogena.

### 2.1.3. Serologija mesnog soka divljih svinja

Budući da se toksoplazmoza smatra nedovoljno otkrivenom i slabo prijavljenom bolesti, postoji potreba za optimizacijom nadzora kod divljih svinja za procjenu proširenosti i epidemiološkog statusa bolesti (BERGER-SCHÖCH i sur., 2011.). Tako su RACKA i sur. (2015.) proveli istraživanje čiji je cilj bio procijeniti primjenjivost mesnog soka za otkrivanje protutijela na *T. gondii* u divljih svinja, te utvrditi seroprevalenciju i čimbenike rizika. Starost životinja (n=656) procijenjena je na temelju tjelesne težine i molariformnog razvoja mandibularnog zuba. Divlje svinje su bile raspoređeni u tri dobne skupine: 1) 279 prasadi ( $\leq 12$  mjeseci) 2) odrasli, 321 godišnjak (stariji od 12-24 mjeseca) i 3) 56 starijih svinja ( $\geq 24$  mjeseca). Uzorci soka od mesa ispitivani su na prisutnost IgG antitijela na *T. gondii* internom ELISA-om te drugih komercijalnih kitova.

Od 656 pregledanih divljih svinja, 260 (40 %, 95% – C.I. 36–43%) su bile pozitivne na *T. gondii* protutijela sa statističkom razlikom ( $p = 0,000$ ) između prasadi (26 %, 95% C.I. 21–31%) i odraslih životinja (50 %, 95% – C.I. 45–55 %). Nulla hipoteza da je *T. gondii* seroprevalencija kod prasadi je identična sa seroprevalencijom u odraslih je odbijena na razina značajnosti 0,05. Seroprevalencija protutijela na *T. gondii* korelirala je pozitivno s gustoćom divljih svinja po četvornom kilometru, ali bez statističke značajnosti ( $r = 0,275$ ;  $p = 0,475$ ) (RACKA i sur., 2015.).

Ukupna seroprevalencija *T. gondii* (40 %) pronađena u divljih svinja u ovome istraživanju bila je usporediva s dobivenim rezultatima modificiranim testom aglutinacije (MAT) u nekim europskim zemljama: 36 % - 38 % u Španjolskoj ili 55% u Francuskoj (GAUSS i sur., 2005.; RUIZ-FONS i sur., 2006.; RICHOMME i sur., 2010.).

Postoji hipoteza da se divlje svinje invadiraju tijekom kopanja po tlu zagađenom oocistama *T. gondii* ili slučajnim unošenjem inficiranih glodavaca, trupova ili visceralnih organa domaćih životinja. (SOLAYMANI-MOHAMMADI i PETRI JR, 2006.)

U prikazanoj studiji statistički veća prevalencija nađena je kod odraslih životinja u odnosu na prasade. To može ukazivati peroralno podrijetlo infekcije (HALOS i sur., 2009.). Odnos prevalencije i dobi promatrana je do 10. mjeseca starosti, ali nakon toga postaje stabilna, dok nema značajnih varijacija u odnosu na godine uzorkovanja ili između mjesta uzorkovanja što može ukazivati na stalnu prisutnost infekcije iz okoliša (OPSTEEGH i sur., 2011.).

Statistički značajne razlike nađene su između dvije dobne kategorije i distrikta podrijetla. Neizravni ELISA test pokazao se kao obećavajući test za budući nadzor nakon klanja i praćenja *T. gondii* u mesu divljih svinja ili proizvoda od mesa divljih svinja. Sok od mesa odobren je kao kvalitetan uzorak za otkrivanje antitijela ELISA-om u mesu divljih svinja ili proizvoda od mesa divljih svinja. Dijafragma je prospektivna matrica za paralelnu serološku dijagnostiku toksoplazmoze i dijagnostiku trihineloze metodom umjetne probave (RACKA i sur., 2015.).

## **2.2. *Salmonella* spp.**

*Salmonella enterica* je uzročnik salmoneloze farmskih životinja i ljudi te je tipična zoonoza koja se prenosi mesom. Salmonelozu ljudi karakterizira proljev i može se prenijeti putem hrane (O'BRIEN, 2005.). Epidemiološka istraživanja pokazala su da trgovina subklinički zaraženim životinjama i upotreba kontaminirane hrane glavni čimbenici rizika za unošenje infekcije salmonelom u stada (STEGE i sur., 1997.; STÄRK i sur., 2002.).

### **2.2.1. Serologija mesnog soka svinja**

U mnogim zemljama, osobito onima u kojima se konzumiraju značajne količine sirovog, dimljenog ili blago kuhanog mljevenog proizvoda od svinjskog mesa, svinjetina je izvor značajnog udjela infekcija salmonelom kod ljudi (BERENDS i sur., 1998.; ANONYMOUS, 2002.). Loš nadzor unosa, povećanje veličine farme, promjene u prehrani i nedostatak specifičnih kontrola salmonele znači da je salmonela postala veći problem za suvremenu integriranu proizvodnju svinja nego u manjim uzgojima koje je zamijenila (BLAHA, 2001.). Monitoring salmonele na farmama preduvjet je upravljanja rizikom u proizvodnji mesa. Tako su DAVIES i sur. (2003.) napravili istraživanje s ciljem da se utvrdi može li serologija mesnog soka biti učinkovit pokazatelj statusa infekcije salmonelom u stadu svinja te tako ponuditi mogućnost pružanja učinkovitog programa praćenja uz minimalne troškove (DAVIES i sur., 2003.).

Prikupili su 421 uzorak iz 20 stada koji su bili testirani Guildhay VetSign Salmonella ELISA Kitom (VP020; Guildford, UK), koji uključuje antigene lipopolisaharida (LPS) iz skupina C1 i B salmonela: *S. Choleraesuis* i *S. Typhimurium*.

Prosječni O.D. za pojedinačna ispitivanja mesnog soka bio je 0,35 (raspon: 0,07- 0,70), a SP je bio 0,41 (raspon: 0,03- 0,77). Ukupno 182 od 421 (43,2 %) uzorka dalo je pozitivne ELISA rezultate. Time bi se samo dvije (10 %) farme svrstale u kategoriju 1, osam (40 %) farmi u kategoriju 3 i 10 (50 %) farmi u kategoriju 2, ako bi se primijenila danska kategorizacija (DAVIES i sur., 2003.).

Strategija suzbijanja salmonele pokazala je da pragmatičan pristup kategoriziranju stada na temelju seroprevalencije protutijela na salmonelu može biti učinkovit alat za identifikaciju visoko zaraženih stada (MOUSING i sur., 1997.; VAN DER WOLF i sur., 2001.). Premda pojedinačni serum ili mesni sok na salmonelu ELISA test ima lošu korelaciju s bakteriologijom na

individualnoj osnovi, može se koristiti za označavanje stada za koja je vjerojatnije da će trebati poboljšanu kontrolu salmonele (CHRISTENSEN i sur., 1999.; CLOUTING i DAVIES, 2001.; DAVIES i sur., 2001.; CORÉGÉ, 2002.).



### 2.2.2. Serologija mesnog soka divljih svinja

Divlje svinje mogu poslužiti kao rezervoari za brojne patogene, od kojih se neki prenose na domaće životinje i ljude, što predstavlja potencijalnu veterinarsku i javnozdravstvenu prijetnju. (MILLER i sur., 2017.). Divlje svinje su potencijalni nositelji različitih serovarova *Salmonella enterica*, uključujući *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium*, te *S. Cholerasuis* (EFSA, 2013.; METHNER i sur., 2014.; CILIA i sur., 2021.). Primjenjivost serologije mesnog soka na salmonelu nedavno su istraživali na uzorcima ošita divljih svinja BASSI i sur. (2021.).

Uzorkovanje ošita se odvijalo tijekom lovne sezone (od srpnja do studenog) 2020. godine u sklopu nacionalnog obveznog pregleda divljih svinja za *Trichinella* spp. Uzorci su potjecali od 31 divlje svinje odstreljene u okrugu Schaffhausen u sjevernoj Švicarskoj (skupina 1) i od 95 divljih svinja odstreljenih u okrugu Ticino koji se nalazi u južnoj Švicarskoj (skupina 2). Težinu i spol životinja odredili su lovci. U ovoj studiji, životinje su podijeljene u četiri težinske kategorije: kategorija I (10–20 kg), kategorija II (21–40 kg), kategoriju III (41–60 kg) i kategoriju IV (> 60 kg). Za ovo istraživanje, težina svake životinja uzeta je kao aproksimacija starosti. Uzorci su do obrade pohranjeni na -18 °C. Za dobivanje mesnog soka uzorci su bili odmrznuti preko noći na sobnoj temperaturi i mehanički stisnuti kako bi se dobilo 200-500 µL mesnog soka.

Sveukupno je 21 (17 %) životinja bilo pozitivno na prisutnost protutijela protiv *Salmonella* spp. Seropozitivnost bila je značajno veća ( $p < 0,0001$ ) divljih svinja iz skupine 1 (52 %) u usporedbi sa životinjama iz skupine 2 (5 %). Od 31 divlje svinje koje pripadaju skupini 1, tri (38 %) u težinskoj kategoriji I (10–20 kg), pet (56 %) u kategoriji II (21–40 kg), daljnjih pet (45 %) u kategoriji III (41–60 kg) i svih tri (100 %) koja pripadaju kategoriji IV (> 60 kg) bile su seropozitivne na salmonelu. Nadalje, u skupini 1, 5 (45 %) ženki i 11 (58 %) mužjaka bilo je pozitivno, međutim, razlika nije bila značajna ( $p = 0,466$ ). Obje životinje neidentificiranog spola bile su seronegativne. Među 95 životinja u skupini 2, nijedna iz težinske kategorije I nije bila seropozitivna. Tri (12 %) iz kategorije II, jedna (3 %) iz kategorije III i jedna (7 %) iz kategorija IV su bile seropozitivne na salmonelu. Nadalje, u skupini 2, pri čemu su četiri (9 %) ženke i jedan (3%) mužjak bili pozitivni, seroprevalencija salmonele među ženkama bila je veća nego među mužjacima, ali razlika nije bila značajna ( $p = 0,643$ ).

Sveukupno uočeno povećanje seropozitivnosti s dobi životinje ukazuje na to da životinje djeluju kao rezervoari za salmonelu i vjerojatno su nositelji i širitelji zaraze. Mogući razlozi za

veliki broj životinja zaraženih salmonelom u ovom području može uključivati kontakt sa zagađenim poljoprivrednim površinama i farmskim životinjama. Visoka pojava *Salmonella* spp. kod divljih svinja može predstavljati faktor rizika za domaće životinje i ljude koji žive na istom području. (BASSI i sur., 2021.)

### 2.2.3. Serologija mesnog soka preživača

Salmonela je uzročnik akutne i subkliničke bolesti kod goveda (WRAY i DAVIES, 2000.). Može uzrokovati bolest u goveda svih dobi, iako su najčešće klinički pogođena skupina telad u dobi od 2 tjedna do 3 mjeseca (NIELSEN, 2003). Salmonela se općenito prenosi na ljude putem konzumacije kontaminirane hrane životinjskog podrijetla poput govedine i mlijeka (MEAD i sur., 1999.). Serologija može pokazati da li je prisutna trajna infekcija stada i goveda za razliku od ograničene bakteriologije (WIUFF i sur., 2002.). Identifikacija faktora rizika nužan je preduvjet za utvrđivanje odgovarajućih kontrolnih mjera na farmi radi preciznog i ciljanog pristupa smanjenju onečišćenja salmonelom (ABDULKADIR i sur., 2016.). Navedeni autori su istražili seroprevalenciju koristeći mišićje prsa goveda (n=100) i utvrdili protutijela u 7 uzoraka mesnog soka (7 %,  $p \leq 0,05$ ). Dva su uzorka mesnog soka imala samo niske pozitivne rezultate (OD% 10 % - 20 %). Visoko pozitivni uzorci (OD% >40 %) pronađeni su u 2 uzorka mesnog soka (15 % pozitivnih) dok su 3 uzorka mesnog soka imala OD% između 20 %-35 %. ELISA komplet korišten u ovom istraživanju omogućuje otkrivanje širokog raspona antitijela na serogrupu salmonela (B, C1 i D) označavajući izloženost goveda bakteriji (ABDULKADIR i sur., 2016.). Iako pojedinačni rezultati ELISA testa slabo koreliraju s bakteriološkim nalazom ovo istraživanje pokazuje da se infekcija *Salmonella* spp. ne javlja se samo u stadu nego i pojedinačno kod goveda pred klanje što nalaze i drugi autori (CHRISTENSEN i sur., 1999; CLOUTING i DAVIES, 2001; DAVIES i sur., 2001; CORRÉGÉ, 2002.)

### 2.3. *Yersinia spp.*

*Yersinia enterocolitica* važan je i često zanemaren patogeni mikroorganizam u veterinarskom javnom zdravstvu i higijeni mesa (NINIOS i sur., 2014.). Iako se bakterijski prijenos na ljude obično događa sirovom ili nedovoljno kuhanom hranom ili vodom, zabilježene su neke infekcije pod niskom razinom osobne higijene (NINIOS i sur., 2014.; FELIN, 2019.) Infekcija patogenim *Y. enterocolitica* obično se očituje blažim gastrointestinalnim simptomima koji obično ne zahtijevaju liječenje. Stoga se vjeruje da je stvarni broj zaraženih pojedinaca mnogo veći od broja prijavljenih slučajeva, pa je važnost ove bakterije u javnom zdravlju s vremenom podcijenjena (NINIOS i sur., 2014.).

#### 2.3.1. Serologija mesnog soka svinja

Zbog postupaka klanja, bakterije poput *Y. enterocolitica* prisutne u izmetu i ždrijelu (tonzile) zaraženih svinja tijekom obrade mogu kontaminirati druge trupove (LAUKKANEN i sur., 2009). Brojna su istraživanja pokazala visoku seroprevalenciju i prisutnost *Y. enterocolitica* u tovnih svinja u EU. Primjerice, VANANTWERPEN i sur. (2014.) procijenjivali su varijacije u serološkoj prevalenciji patogene *Y. enterocolitica* individualno kod svinja i na razini skupine svinja tijekom klanja.

Od siječnja do prosinca 2012., 100 serija svinja, koje potječu s različitih farmi, uzorkovane su u dvije belgijske klaonice. Uzorkovane su svinje od prasenja do kraja tova i tovne svinje, starosti 6–6,5 mjeseci s prosječnom težinom od 120 kg u vrijeme klanja. (VANANTWERPEN i sur., 2013). Rezultati su smatrani pozitivnim ako je vrijednost aktivnosti premašila predloženu graničnu vrijednost od 30 OD%. Seroprevalencija unutar serije je usporedba broja pozitivnih svinja na ukupan broj uzorkovanih svinja (1/0 granična vrijednost 30 OD%). Serija je klasificirana kao pozitivna ako je jedna svinja unutar serije imala aktivnu vrijednost iznad granične vrijednosti. Veličina serije varirala je od 70 do 930 svinja, sa prosjekom veličina serije  $314 \pm 169$  svinja. (VANANTWERPEN i sur. 2014.).

Šezdeset i šest posto životinja klasificirano je kao pozitivno prema korištenoj graničnoj vrijednosti. OD% od pojedine svinje pokazale su veliku varijaciju u rasponu od -4,9 do 181,6 OD%. Rezultati su prikazali bimodalni oblik raspodjela s modovima na 0-10 % (n = 879) i 50-60% (n = 667). Prosječni OD % bio je 51 %. Prosječni OD% po seriji je također bio vrlo promjenjiv

(od -1 do 95). U 22 serije srednji OD% bio je manji od 30 %. Seroprevalencija unutar serije (svinje sa OD% > 30 %/ukupno svinja uzorkovano po seriji) u rasponu od 0 do 100 % i prikazuje bimodalnu distribuciju s načina rada pri 0 % (n = 7) i 85–90 % (n = 16). Samo na sedam farmi, nije bilo prisutnih seropozitivnih životinja. Srednja seroprevalencija unutar serije bila je 66,4 %. (VANANTWERPEN i sur. 2014.).

U ovoj studiji, seroprevalencija od 66% u svinja pri klanju ukazivale su na čest kontakt sa enteropatogenom *Yersinia* spp. tijekom razdoblja uzgoja. Prisutan je veliki broj svinja koje posjeduju antitijela u mnogim serijama što implicira da su brojne farme svinja zaražene *Yersinia* spp. Dakle, prisutno je mikrobiološko onečišćenje svinja koje se mora smanjiti, a serologija je jedini način za dobivanje informacija o prevalenciji prije klanja. Stoga bi se usporedba mikrobioloških i seroloških podataka trebala obavljati u vrijeme klanja (VANANTWERPEN i sur. 2014.).

### 2.3.2. Serologija mesnog soka divljih svinja

Divlje svinje predstavljaju rezervoar mnogih patogenih uzročnika, uključujući i *Yersinia* spp. za domaće životinje i ljude (WACHECK i sur., 2010.; SANNÖ i sur., 2014.). Također se i u ovih životinja pokušava utvrditi seroprevalencija *Yersinia* spp. primjenom serologije mesnog soka. Primjerice, LORENCOVA i sur. (2016.) su pretraživali prisutnost protutijela u uzorcima mesnog soka ošita 135 odstrijeljenih divljih svinja u regiji Češke. Divlje svinje dolaze iz četiri lovišta u Moravskoj (slobodne životinje, 27–40 divljih svinja po lovištu). Životinje su odstreljene u 2013. i 2014. godini. Životinje su bile grupirane u dvije skupine: mlađe od 1 godine ( $n = 94$ ) i odrasle ( $n = 41$ ).

Protutijela su bila pronađena u 65,9 % divljih svinja bez statistički značajnog značenja razlika ( $p > 0,05$ ) s obzirom na dob životinja. Dobiveni rezultati u tom istraživanju su vrlo slični rezultatima istraživanja provedenih u Švicarskoj (65%, FREDRIKSSON-AHOMA i sur., 2009.) i u Njemačkoj (62,6 %, AL DAHOUK i sur., 2005.). Povećanje protutijela s dobi u divljih svinja zabilježeno je ipak u nekim radovima (AL DAHOUK i sur., 2005.; FREDRIKSSON-AHOMA i sur., 2009.; NESBAKKEN i sur., 2006.) što se pripisuje dugotrajnijoj izloženosti bakteriji. FREDRIKSSON-AHOMA i sur. (2009.) pronašli su najnižu prevalenciju anti-*Yersinia* antitijela u divljih svinja mlađih od 6 mjeseci starosti. Za razliku od seroprevalencije, pokazalo se da su osobito mlade životinje bile važni nositelji patogene *Yersinia* spp. (NESBAKKEN i sur., 2006.; FREDRIKSSON-AHOMA i sur., 2009.). S obzirom na navedene nalaze, potrebno je spriječiti prijenos patogenih vrsta *Yersinia* u lancu mesa divljih svinja prakticiranjem dobrih higijenskih postupaka u obradi mesa, uključujući i dovoljnu toplinsku obradu prije konzumacije (LORENCOVA i sur., 2016.).

## 2.4. Hepatitis E virus

Virus hepatitisa E (HEV) je mali virus s jednolančanom RNA, a sojevi koji pripadaju vrsti *orthohepevirus*, a odgovorni su za hepatitis kod ljudi (SMITH i sur., 2014.). HEV se prenosi prvenstveno fekalno-oralnim putem putem onečišćene vode za piće. Međutim, nedavne studije pokazale su da različite životinjske vrste imaju serumska antitijela na HEV, što ukazuje na to da je hepatitis E zoonotska bolest. (MENG, 2000.).

### 2.4.1 Serologija mesnog soka svinja

U razvijenim zemljama smatralo se da je infekcija povezana s putovanjem u regije gdje je HEV endemičan. Nedavno su prikupljeni izvještaji koji opisuju slučajeve hepatitisa E u osoba bez povijesti putovanja. Smatra se da je do zaraze došlo zoonotskim prijenosom, budući da se domaće svinje, divlje svinje i druge životinje smatraju rezervoarima za HEV (MENG, 2010.; PAVIO i MANSUY, 2010.) Iako je rijedak, prijenos HEV -a hranom životinjskog podrijetla na ljude sve se više percipira u Europskoj uniji. (EFSA, 2011a.). Tako su WACHECK i sur. (2012.) pokušali utvrditi seroprevalenciju protutijela protiv HEV-a u svinja pri klanju iz regije s velikom populacijom svinja i procijeniti različite strategije uzorkovanja na razini stada (pojedinačni ili zbirni uzorci) za procjenu seroprevalencije stada (WACHECK i sur., 2012.).

U razdoblju od rujna do listopada 2011. prikupljeno je ukupno 400 uzoraka ošita (približno 10 g po uzorku) od tovnih svinja starih 6 mjeseci u švicarskim klaonicama. Uzorci su potjecali od 167 različitih proizvođača koji se nalaze u 136 različitih mjesta geografski raspoređenih u sjeverozapadnim, središnjim i sjeveroistočnim dijelovima Švicarske. Od svakog proizvođača, uzorkovano je i objedinjeno tri do pet životinja, te je od dodatnih životinja uzet pojedinačni uzorak koje pripadaju istom proizvođaču. Dakle, 200 združenih i 200 pojedinačnih uzoraka upareno je u odnosu na proizvođača tovnih svinja. Uzorci dijafragme prikupljeni su u sterilnim uvjetima izravno s prsnih organa neposredno nakon što je prsna šupljina bila otvorena. Uzorci su transportirani u rashlađenim uvjetima te su se čuvali na -20°C do obrade. Analiza na antiHEV imunoglobulin aG (IgG) odrađena je pomoću Priocheck HEV Ab (WACHECK i sur., 2012.)

Uzimajući u obzir način uzorkovanja, koristeći Priocheck HEV Ab svinja, 120 (60 %) od 200 objedinjenih uzoraka i 97 (49 %) od 200 pojedinačnih uzoraka prikupljenih od zdravih svinja pri klanju pozitivno je na prisutnost antitijela protiv HEV -a korištenjem mesnog soka. Uparivanje

uzoraka, tj. kombiniranje združenih i pojedinačnih uzoraka u odnosu na proizvođača daje 74 (37 %) od ukupno 200 HEV-pozitivnih uzoraka. Združivanje uzoraka po proizvođaču dalo je statistički značajno veću vrijednost stope detekcije (40 od 200) nego pojedinačni uzorci (14 od 200).

Suprotno seroprevalenciji u ljudi, prevalencija u svinja pri klanju prilično je visoka u Švicarskoj, što opovrgava pretpostavku da niska seroprevalencija anti-HEV u ljudi može korelirati s niskom seroprevalencijom u domaćih svinja (KAUFMANN i sur., 2011.) Pokazalo se da svinje starije od 4 mjeseca pokazuju veću stopu seroprevalencije (PAVIO i sur., 2010.) Svinje uzorkovane u trenutnom istraživanju bile su stare oko 6 mjeseci. Ipak, zbog nedostatka podataka o stopi seroprevalencije svinja mlađih od 4 mjeseca u Švicarskoj ne može se donijeti konačan zaključak. Također, uspoređujući stope seroprevalencije iz različitih istraživanja, smatra se da nije učinjena nijedna analiza ELISA-e s istim testnim kompletom, nego korištenjem internih ELISA testova. U ovoj studiji, seroprevalencija je bila 60% na razini farmi i 49% na individualnoj razini životinja (WACHECK i sur., 2012.). Slični rezultati opisani su u nedavnoj studiji iz Francuske gdje je seroprevalencija na razini farme bila 65 % i na pojedinačnoj razini bila 31 % u svinja starosne dobi za klanje (PAVIO i sur., 2010.). Ovo pokazuje da je HEV veoma rasprostranjen među domaćim svinjama u Europi, naglašavajući potrebu za identifikacijom podrijetla infekcije u svinja kako bi se mogao minimizirati potencijalni zoonotski prijenos (WACHECK i sur., 2012.).



#### **2.4.2. Serologija mesnog soka divljih svinja**

Istraživanja seroprevalencije HEV-a aktualna su i u divljih svinja. YONEMITSU i sur. (2018.) koristili su ELISA -u za analizu mesnog soka dijafragme divljih svinja umjesto uzoraka seruma za otkrivanje antitijela virusa hepatitisa E (YONEMITSU i sur., 2018.).

Uzorci su prikupljeni od 46 divljih svinja od studenog 2016. do svibnja 2017. u Japanu. Za dobivanje mesnog soka ošita, otprilike 100 grama mesa stavljeno je u plastičnu vrećicu, a zatim zamrzavan i odmrzavan do analize. Anti-HEV antitijela u mesnom soku otkrivena su pomoću već uspostavljenog ELISA testa koji koristi A/G protien za otkrivanje imunoglobulina. Korišteni su uzorci mesnog soka u razrjeđenjima 1:10, 1:20 ili 1:40. Apsorpcija veća od 0,437 smatrana je pozitivnom. Osam od 46 divljih svinja (17 %) bilo je seropozitivno korištenjem 100 puta razrijeđenim uzorkom seruma. Od mesnog soka ošita, 8 (22 %), 8 (22 %) i 7 (19 %) od 36 divljih svinja bilo je pozitivno pri razrjeđivanju 1:10, 1:20 i 1:40. Izračunata je osjetljivost i specifičnost uzoraka sokova od mesa za svako razrjeđivanje uzoraka soka od srca i dijafragme. Osjetljivost 40 puta razrijeđenih uzoraka dijafragme bila je 88%, a ostale osjetljivosti i specifičnosti bile su 100 % (YONEMITSU i sur., 2018.)

Zaključno, mesni sok dobar je uzorak za otkrivanje anti-HEV antitijela od divljih svinja. Nadalje ELISA analiza koristila je protein A/G za otkrivanje imunoglobulina, ovaj ELISA test pomoću mesnog soka može biti primjenjiv za otkrivanje protuvirusnih protutijela iz drugih vrsta sisavaca (YONEMITSU i sur., 2018.).

### 3.RASPRAVA

Zdrave životinje za klanje, tj. one koje ne pokazuju kliničke znakove ili velike patološke lezije, često nose zoonotske, mikroskopski vidljive opasnosti poput *Campylobacter* spp., *Salmonella enterica*, humane patogene *Escherichia coli* i *Yersinia enterocolitica* (uzročnici četiri najvećih prijavljenih zoonoza u ljudi u Europi; (EFSA/ECDC, 2019.) u probavnom traktu ili na koži. Budući da se tradicionalnom inspekcijom mesa te opasnosti ne mogu otkriti, sigurnost mesa u odnosu na njih oslanja se na sprječavanje ili smanjenje fekalnih i drugih onečišćenja, uključujući higijenu klaonice do mesa tijekom klanja i obrade trupova, tj. higijenu klaoničkog procesa (BLAGOJEVIĆ i ANTIĆ, 2014. ). U 2010. tražilo se mišljenje Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA) o modernizaciji inspekcije mesa prema sustavu koji se temelji na riziku. Diferencijacija svinja na visokoj ili niskoj razini rizika na temelju serološkog praćenja za odabrane patogene predloženo je za poboljšanje inspekcije mesa (EFSA, 2011.b).

Serologija mesnog soka korisna je za opsežna istraživanje infekcija i pojave subkliničkih infekcija u životinja te ima mogućnost upotrebe u kategorizaciji rizika životinja ili farmi (MEEMKEN i sur., 2014.; FELIN i sur., 2019. ; LORECK i sur., 2020.). U Danskoj, djelomično automatizirana ELISA organizacija kontinuirano ispituje razinu salmonele u stadi u tovnim svinjama , a rezultati se koriste mjesečno za svrstavanje stada u tri kategorije rizika (ALBAN i sur., 2012.). Još jedno potencijalno područje je serološko praćenje *T. gondii* kod svinja na otvorenom, koje su poznate kao veći rizik od svinja u zatvorenom uzgoju (OLSEN i sur., 2020.). Također, automatsko mjerenje proteina akutne faze u serumu, čija se razina mijenja kod životinja koje pate od infekcije, upale ili stresa, moglo bi biti korisno u RB-MSAS (BLAGOJEVIĆ i sur., 2011.; GUTIÉRREZ i sur., 2015.).

Razine specifičnih antitijela su niža u mesnom soku nego u serumu, te kako bi se to nadoknadilo, mesni sok se obično testira na nižem razrjeđenju, često oko 10 puta manje od seruma (WINGSTRAND i sur., 1997.; NIELSEN i sur., 1998.). Standardizacija vađenja i prerade mesnog soka od ključne je važnosti za osiguranje kvalitete i ocjenu čimbenika koji utječu na osjetljivost i specifičnost testa. Koncentracija antitijela u soku od mesa ovisi o tome koji se mišić koristi za ekstrakciju. Specifični IgG titri dobro koreliraju s ukupnom razinom IgG. Također, čini se da sadržaj Hb utječe na specifične razine antitijela u mesnom soku iz dijafragme, ali ne i iz srca ili semitendinosusa. Tako, za povećanje osjetljivosti analize mesnih sokova, odabir mišića treba

standardizirati, a distribuciju antitijela prema uzorku je potrebno razmotriti. Za seroepidemiološka istraživanja i identificiranje farmi s visokom prevalencijom infekcija uzrokovanih hranom, trošak za dodavanje još jednog testa za prilagodbu varijacije u distribuciji antitijela vjerojatno su nesrazmjerne dobiti. Međutim, ako se želi provesti analiza sokova od mesa kako bi se razlikovala zaražena od nezaražene životinje na individualnoj razini, uzorci s niskom razinom protutijela su nepouzdana (WALLANDER i sur., 2015.).

Ako program serološkog praćenja poput njemačkog ili danskog programa praćenja salmonele, već uzeti uzorci sokova od mesa lako se mogu ponovno iskoristiti, također otkrivajući antitijela protiv dodatnih patogena. Iako je većina ELISA testova za proizvodne bolesti licencirana samo za krvni serum, MEEMKEN i BLAHA (2011.) su pokazali da je deset puta manje razrjeđenje uzorka mesnog soka u odnosu na krvni serum dovodi do usporedivih seroloških rezultata za proizvodne bolesti. Ovaj nalaz je u skladu s NIELESNOM i sur. (1998.) i MOLINA i sur. (2008.), koji su istraživali deset puta nižu vrijednost koncentracije antitijela na *Salmonella* spp. i koncentracije antitijela PRRSV u mesnom soku u usporedbi s odgovarajućim krvnim serumima (MEEMKEN i sur., 2014.).

Koncept seroloških profila stada koji je kontinuirano ažuriran (koristeći pomični prosjek koncentracije protutijela po parametru izračunat iz uvijek najnovijih 60 uzoraka po stadu) pruža dvije prednosti u smislu donošenja odluka o sigurnosti hrane i poboljšanju zdravlja stada: a) kontinuirano serološko praćenje rezultata omogućuje identificiranje svake promjene u pojavi i prevalenciji antitijela tijekom nekog vremena u nadziranim stadima; i b) profili stada u bilo kojem trenutku pružaju mogućnost usporedbe između nadziranih stada što se opet može iskoristiti za benchmarking sustav kao osnova za strategije sigurnosti hrane i poboljšanja zdravlja stada. (MEEMKEN i sur., 2014.). Izvodljivost i isplativost predloženog koncepta multi-serologije moglo bi biti drastično povećano primjenom testnih sustava koji istodobno izvode željene testove, automatizirano i minijaturizirano (BOKKEN i sur., 2012.).

RB-MSAS bi mogao imati koristi od brzih, isplativih i razumno osjetljivih tehnologija za kontinuirano praćenje ranije u lancu vrijednosti. Analiza podataka i dokumentacija su temeljni za osiguranje povrata iz programa nadzora i kontrole. Provedba RB-MSAS-a mogla bi se smatrati remetilačkom inovacijom i stoga će se vjerojatno suočiti s protivljenjem različitih interesnih skupina. S obzirom na ciljeve poboljšanja javnog zdravlja i dugoročne ekonomske uštede, očekuje

se da bi sve interesne skupine trebale biti za modernizaciju. Prelazak s tradicionalnog na RB-MSAS općenito uključuje smanjene troškova povezanih s tradicionalnim inspekcijskim aktivnostima, te dodatne troškove povezane s novim tehnologijama i aktivnostima u obliku programa praćenja i revizije. Promjena je nastala zbog percepcije da korist od smanjenja križne kontaminacije nadmašuje vrijednost dodatnih nalaza potencijalno uočenih tradicionalnom inspekcijom. Opći pristup vezan uz proces modernizacije temelji se na dokazima, pa se podaci moraju prikupljati od životinja na farmama, te od trupova i mesa u klaonicama. Primjenjuje se fokus na lanac mesa koji omogućuje procjenu učinaka promjene različitih elemenata inspekcije na konačne ishode (prevalencije opasnosti na mesu/u mesu). Sve to utječe na to kako se promjene mogu provesti bez ugrožavanja sigurnosti hrane, zdravlja životinja ili dobrobiti životinja. Štoviše, spora promjena omogućila je potrošačima, inspektorima i trgovinskim partnerima da steknu povjerenje u promjene. Slijedom toga, očekuje se da će prelazak na RB-MSAS dovesti do proporcionalnijeg upravljanja rizicima s boljim omjerom troškova i koristi, zbog boljeg razumijevanja onog što je potrebno, gdje je potrebno i kako izvesti ono što je potrebno. Takav pristup mogao bi se nazvati procjenom i upravljanjem na temelju rizika (BLAGOJEVIĆ i sur., 2021.).

#### 4.ZAKLJUČAK

*Toxoplasma gondii* i *Salmonella* spp. prisutne su u svim domaćim životinjama i to najviše u životinja starijih od 6 mjeseci. Smatra se da su mlađe životinje pod zaštitom majčinskih protutijela te je zato pojavnost manja. Također, pojavnost je veća u ekstenzivnim uzgojima životinja, zbog češćih kontakata sa divljim životinjama i glodavcima, dok u intenzivnim uzgojima je pojavnost manja zbog veće kontrole uvjeta proizvodnje. Dok *Yersinia* spp. i hepatitis E virus predstavljaju biološku opasnost u domaćih i divljih svinja, naročito zbog konzumacije nedovoljno termički obrađenih proizvoda.

Navedeni uzročnici predstavljaju potencijalno veliki problem u javnom zdravstvu. Stoga bi se trebao uvesti praktičan i ekonomski isplativ način dijagnostike na individualnoj osnovi i cijelog stada. U opisanim radovima koristila se ELISA na uzorcima mesnog soka. Jednostavnost izvođenja ELISA-e omogućuje obavljanje testa na bilo kojem mjestu u lancu proizvodnje, no najčešće se odabire dijafragmatski mišić kako bi se paralelno mogla obaviti i umjetna probava radi dokazivanja *Trichinella* spp.

Serološki monitoring omogućio bi lakšu podjelu farmi prema riziku te prema potrebi mogle bi se poboljšati kontrolne mjere. Također, u kombinaciji s drugim informacijama o prehrambenom lancu, poput vidljivih indikatora zdravlja (kanibalizam, kašljanje) te mikrobioloških pretraga uzoraka i drugih načina inspekcije mesa olakšalo bi donošenje odluka o pregledu mesa. Također, klaonice i farme mogle bi preći na RB – MSAS sustav koji bi omogućio moderniji pristup upravljanju rizikom gdje bi se informacije skupljale s životinja na farmama i u klaonicama.

## 5. LITERATURA

1. ABDULKADIR, A., N.A. ADAMU, S. BITRUS, L.L. GANA, S. HABIBU, Y.Y. MOHAMMED, E.A. ALAO, F.I. MOHAMMED (2016): Detection of *Salmonella* infection in slaughter cattle using meat juice and serum. *Journal of Agricultural Science and Practice*. 1(1): 1-5.
2. AL DAHOUK, S., K. NÖCKLER, H. TOMASO, W.D. SPLETTSTOESSER, G. JUNGERSEN, U. RIBER, T. PETRY, D. HOFFMANN, H.C. SCHOLZ, A. HENSEL, H. NEUBAUER, (2005): Seroprevalence of brucellosis, tularemia, and yersiniosis in wild boars (*Sus scrofa*) from North-Eastern Germany. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health* 52(10), 444–455.
3. ALBAN, L., F.M. BAPTISTA, V. MØGELMOSE, L.L. SØRENSEN, H. CHRISTENSEN, S.A.ABO, J. DAHL (2012): *Salmonella* surveillance and control for finisher pigs and pork in Denmark – a case study *Food Res. Int.* 45(2), 656-665.
4. ALBAN, L., J. V. PETERSEN, A. K. BÆKBO, T. Ø. PEDERSEN, A. B. KRUSE, G. PACHECO, M. H. LARSEN (2021): Modernising meat inspection of pigs—A review of the Danish process from 2006-2020. *Food Control*, 119, 107450.
5. ANONYMOUS (2002): Annual Report on Zoonoses in Denmark 2001. Copenhagen: Ministry of Food, Agriculture and Fisheries, Danish Zoonosis Centre.
6. BASSI, A. M. G., STEINER, J. C., STEPHAN, R., NÜESCH - INDERBINEN, M. (2021): Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Salmonella* in Hunted Wild Boars from Two Different Regions in Switzerland. *Animal*. 11(8), 2227.
7. BASSO, W., S. HARTNACK, L. PARDINI, P. MAKSIMOV, B. KOUDELA, M. C. VENTURINI, G. SCHARES, 389 X. SIDLER, F. I. LEWIS and P. DEPLAZES (2013): Assessment of diagnostic accuracy of a commercial ELISA for the detection of *Toxoplasma gondii* infection in pigs compared with IFAT, TgSAG1-ELISA and Western blot, using a Bayesian latent class approach. *Int. J. Parasitol.* 43, 565-570.
8. BERENDS, B.R., F. VAN KNAPEN, D.A.A. MOSSEL, S.A. BURT, J.M.A. SNIJDUS (1998): Impact on human health of *Salmonella* spp. on pork in the Netherlands and the anticipated effects of some currently proposed control strategies. *Int. J. Food. Microbiol.* 44, 219– 229.

9. BERGER-SCHOCH, A. E., D. BERNET, M. G. DOHERR, B. GOTTSTEIN, C. F. FREY (2011): *Toxoplasma gondii* in Switzerland: a serosurvey based on meat juice analysis of slaughtered pigs, wild boar, sheep and cattle. *Zoonoses Public Health*, 58(7), 472-478.
10. BLAGOJEVIĆ, B., D. ANTIĆ (2014): Assessment of potential contribution of official meat inspection and abattoir process hygiene to biological safety assurance of final beef and pork carcasses. *Food Control*, 36 (2014), pp. 174-182.
11. BLAGOJEVIĆ, B., D. ANTIĆ, M. DUCIC, S. BUNCIC (2011): A study of haptoglobin levels in groups of cattle and pigs with and without abnormalities at meat inspection. *Foodborne Pathog. Dis.* 8(10), 1119-1124.
12. BLAGOJEVIĆ, B., T. NESBAKKEN, O. ALVSEIKE, I. VÅGSHOLM, D. ANTIĆ, S. JOHLER, K. HOUF, D. MEEMKEN, I. NASTASIJEVIĆ, M. VIEIRA PINTO, B. ANTUNOVIĆ, M. GEORGIEV, L. ALBAN (2021). Drivers, opportunities, and challenges of the European risk-based meat safety assurance system. *Food Control*, 107870.
13. BLAHA, T. (2001): Pre-harvest food safety as integral part of quality assurance systems in the pork chain from 'stable to table'. *Int. J. Food. Microbiol.* 44, 7– 13.
14. BOKKEN, G.C., A. A. BERGWERFF, F. VAN KNAPEN, (2012): A novel bead-based assay to detect specific antibody responses against *Toxoplasma gondii* and *Trichinella spiralis* simultaneously in sera of experimentally infected swine. *BMC. Vet. Res.* 8(1), 36.
15. BUNCIC, S., L. ALBAN, B. BLAGOJEVIC (2019): From traditional meat inspection to development of meat safety assurance programs in pig abattoirs – The European situation. *Food Control*, 106, 106705.
16. CHRISTENSEN, J., D.L. BAGGESEN, V. SØRENSEN, B. SVENSMARK (1999): *Salmonella* level of swine herds based on serological examination of meat-juice samples and *Salmonella* occurrence measured by bacteriological follow up. *Prev. Vet. Med.* 40, 277–292.
17. CILIA, G., B. TURCHI, F. FRATINI, S. BILEI, T. BOSSÙ, M. L. DE MARCHIS, D. CERRI, M. I. PACINI, F. BERTELLONI (2021): Prevalence, virulence and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* spp.; *Yersinia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes* in European wild boar (*Sus scrofa*) hunted in Tuscany (Central Italy). *Pathogens*, 10(2), 93.

18. CLOUTING, C., R.H. DAVIES (2001): Evaluation of the *Salmonella* meat-juice ELISA in the UK situation. Proceedings of Salinpork 2001. 4th International Symposium on Epidemiology and Control of *Salmonella* and Other Foodborne Pathogens in Pork. 2–5 September 2001, Leipzig, Germany, pp. 496–498.
19. CORRÉGÉ, I. (2002): *Salmonella* in pig farms: characterisation and epidemiological importance of the *Salmonella* status of gilts. Techni. Porc. 25, 13-17.
20. DAVIES, R.H., R. DALZIEL, J. M. WILESMITH, J. RYAN, S.J. EVANS, G. A. PAIBA, C. BYRNE, S. PASCOE (2001): National survey for *Salmonella* in pigs at slaughter in Great Britain. Proceedings of Salinpork 2001. 4th International Symposium on Epidemiology and Control of *Salmonella* and Other Foodborne Pathogens in Pork. 2–5 September 2001, Leipzig, Germany, pp. 162-173.
21. DAVIES, R. H., P. J. HEATH, S. M. COXON, A. R. SAYERS (2003): Evaluation of the use of pooled serum, pooled muscle tissue fluid (meat juice) and pooled faeces for monitoring pig herds for *Salmonella*. J. Appl. Microbiol. 95(5), 1016-1025.
22. DE A DOS SANTOS, C. B., A. C. DE CARVALHO, A. M. RAGOZO, R. M. SOARES, M. AMAKU, L. E. YAI, J. P. DUBEY, and S. M. GENNARI (2005): First isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from finishing pigs from Sao Paulo State, Brazil. Vet. Parasitol. 131, 207–211.
23. DJURKOVIĆ - DJAKOVIĆ, O., J. DUPOUY-CAMET, J. VAN DER GIESSEN, J. P. DUBEY (2019). Toxoplasmosis: overview from a one health perspective. Food and Waterborne Parasitology, 15, e00054.
24. DUBEY, J., (2009): Toxoplasmosis in pigs - The last 20 years. Vet. Parasitol. 164, 89-103.
25. EFSA PANEL ON BIOLOGICAL HAZARDS (BIOHAZ) (2011a): Scientific opinion on an update on the present knowledge on the occurrence and control of foodborne viruses. EFSA J, 9(7), 2190.
26. EFSA PANEL ON BIOLOGICAL HAZARDS (BIOHAZ) (2011b): Scientific Opinion on the public health hazards to be covered by inspection of meat (swine). EFSA J. 9(10), 2351.
27. EFSA PANEL ON BIOLOGICAL HAZARDS (BIOHAZ). (2012). Scientific Opinion on the development of a risk ranking framework on biological hazards. EFSA J. 10(6), 2724.
28. EFSA. (2013). Technical specifications on harmonised epidemiological indicators for biological hazards to be covered by meat inspection of farmed game. EFSA J. 11(6), 3267.



- 29.EFSA-ECDC (2018): The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food- borne outbreaks in 2017, EFSA J. 16.
- 30.EFSA/ECDC (2019): The European union one health 2018 zoonoses report, EFSA J. 17, p. 5926.
- 31.FAO/WHO. (2007): FAO Food and Nutrition Paper. Food safety risk analysis: A guide for national food safety authorities, 87, 1-102.
- 32.FELIN, E., E. JUKOLA, S. RAULO, M. FREDRIKSSON-AHOMAA (2015). Meat juice serology and improved food chain information as control tools for pork-related public health hazards. *Zoonoses Public Health*, 62(6), 456-464.
- 33.FELIN, E. (2019): Towards risk-based meat inspection: Prerequisites of risk-based meat inspection of pigs in Finland. *Dissertationes Schola Doctoralis Scientiae Circumiectalis, Alimentariae, Biologicae. Universitatis Helsinkiensis*.
- 34.FELIN, E., O. HÄLLI, M. HEINONEN, E. JUKOLA, M. FREDRIKSSON - AHOMMA (2019): Assessment of the feasibility of serological monitoring and on-farm information about health status for the future meat inspection of fattening pigs. *Prev. Vet. Med.* 162, 76-82.
- 35.FREDRIKSSON – AHOMAA, M., S. WACHECK, M. KÖNIG, A. STOLLE, R. STEPHAN (2009). Prevalence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* in wild boars in Switzerland. *Int. J. Food. Microbiol.* 135(3), 199-202.
- 36.GAUSS C.B., J. P. DUBEY, D. VIDAL, F. RUIZ, J. VICENTE, I. MARCO, S. LAVIN, C. GORTAZAR, S. ALMERÍA (2005): Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild pigs (*Sus scrofa*) from Spain. *Vet. Parasitol.* 131(1-2) 151–156.
- 37.GAZZONIS, A. L., F. VERONESI, A. R. DI CERBO, S. A. ZANZANI, G. MOLINERI, I. MORETTA, A. MORETTI, D.P. FIORETTI, A. INVERNIZZI, M. T. MANFREDI, (2015): *Toxoplasma gondii* in small ruminants in Northern Italy–prevalence and risk factors. *Ann. Agric. Environ. Med.* 22(1).
- 38.GAZZONIS, A. L., S. A. ZANZANI, L. VILLA, M. T. MANFREDI (2020): *Toxoplasma gondii* infection in meat-producing small ruminants: Meat juice serology and genotyping. *Parasitol. Int.* 76, 102060.
- 39.GUTIÉRREZ, A. M., M. I. VILLA, B. A. MARSILLA, S. MARTINEZ - SUBIELA, A. M. MONTES, J. J. CERÓN (2015). Application of acute phase protein measurements in

- meat extract collected during routine veterinary inspection at abattoirs. Res. Vet. Sci. 101, 75-79.
40. HALOS L, A. THÉBAULT, D. AUBERT, M. THOMAS, C. PERRET, R. GEERS, A. ALLIOT, S. ESCOTTE - BINET, D. AJZENBERG, M. L. DARDÉ, B. DURAND, P. BOIREAU, I. VILLENA (2009). An innovative survey underlining the significant level of contamination by *Toxoplasma gondii* of ovine meat consumed in France. Int. J. Parasitol. 40(2) 193–200.
41. HALOVÁ, D., G. MULCAHY, P. RAFTER, L. TURČEKOVÁ, T. GRANT, T. DE WAAL (2013). *Toxoplasma gondii* in Ireland: seroprevalence and novel molecular detection method in sheep, pigs, deer and chickens. Zoonoses Public Health, 60(2), 168-173.
42. IOVU, A., A. GYÖRKE, V. MIRCEAN, R. GAVREA, V. COZMA, (2012): Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dairy goats from Romania. Vet. Parasitol. 186(3-4), 470-474.
43. KAUFMANN, A., A. KENFAK - FOGUENA, C. ANDRE, G. CANELLINI, P. BURGISSER, D. MORADPOUR, K. E. DARLING, M. CAVASSINI (2011): Hepatitis E virus seroprevalence among blood donors in southwest Switzerland. PLoS. One 6(6) e21150.
44. KIJLSTRA, A., O. A. EISSEN, J. CORNELISSEN, K. MUNNIKSMA, I. EIJEK, T. KORTBEEK (2004): *Toxoplasma gondii* infection in animal-friendly pig production systems. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 45, 3165-3169.
45. KIJLSTRA, A., B. MEERBURG, J. CORNELISSEN, S. DE CRAEYE, P. VEREIJKEN, E. JONGERT, (2008): The role of rodents and shrews in the transmission of *Toxoplasma gondii* to pigs. Vet. Parasitol. 156, 183-190.
46. KIJLSTRA, A., E. JONGERT (2008): Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. Int. J. Parasitol. 38(12), 1359-1370.
47. LAUKKANEN, R., P. O. MARTINEZ, K. M. SIEKKINEN, J. RANTA, R. MAIJALA, H. KORKEALA (2008): Transmission of *Yersinia pseudotuberculosis* in the pork production chain from farm to slaughterhouse. Appl. Environ. Microbiol. 74(17), 5444-5450.
48. LAUKKANEN, R., P. O. MARTINEZ, K. M. SIEKKINEN, J. RANTA, R. MAIJALA, H. KORKEALA (2009): Contamination of carcasses with human pathogenic *Yersinia*

- enterocolitica* 4/O:3 originates from pigs infected on farms. Foodborne Pathog. Dis. 6, 681–688.
49. LOPES, A. P., J. P. DUBEY, F. NETO, A. RODRIGUES, T. MARTINS, M. RODRIGUES, L. CARDOSO (2013). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep, goats and pigs from the North of Portugal for human consumption. Vet. Parasitol. 193(1-3), 266-269.
50. LORECK, K., S. MITRENGA, R. HEINZE, R. EHRLICH, C. ENGEMANN, C. LUEKEN, M. PLOETZ, M. GREINER, D. MEEMKEN (2020): Use of meat juice and blood serum with a miniaturised protein microarray assay to develop a multi-parameter IgG screening test with high sample throughput potential for slaughtering pigs. BMC. Vet. Res. 16(1), 1-14. p. 106.
51. LORENCOVA, A., V. BABAK, J. LAMKA (2016): Serological prevalence of enteropathogenic *Yersinia* spp. in pigs and wild boars from different production systems in the Moravian region, Czech Republic. Foodborne Pathog. Dis. 13(5), 275-279.
52. MEAD, P. S., L. SLUTSKER, V. DIETZ, L. F. MCCAIG, J. S. BRESEE, C. SHAPIRO, P. M. GRIFFIN, R. B. TAUXE (1999): Food-related illness and death in the United States. Emerg. Infect. Dis. 5, 607-625.
53. MEEMKEN D., T. BLAHA (2011): Meat Juice Multi-Serology-A tool for the continuous improvement of herd health and food safety in the framework of the risk-based meat inspection of slaughter pigs. Archiv für Lebensmittelhygiene, 62(6), 192-199.
54. MEEMKEN, D., A.H. TANGEMANN, D. MEERMEIER, S. GUNDLACH, D. MISCHOK, M. GREINER, G. KLEIN, T. BLAHA (2014): Establishment of serological herd profiles for zoonoses and production diseases in pigs by “meat juice multi-serology”. Prev. Vet. Med. 113(4), 589-598.
55. MENG, X. J., (2000). Zoonotic and xenozoonotic risks of hepatitis E virus. Infect Dis Rev, 2, 35-41.
56. MENG, X. J. (2010): Hepatitis E virus: animal reservoirs and zoonotic risk. Vet. Microbiol. 140(3-4) 256-265.
57. METHNER, U., S. MERBACH, M. PETERS (2018): *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Choleraesuis in a German wild boar population: occurrence and characterisation. Acta. Vet. Scand. 60(1), 1-8.

58. MILLER, R. S., S. J. SWENEY, C. SLOOTMAKER, D. A. GREAR, P. A. DI SALVO, D. KISER, S. A. SHWIFF (2017): Cross-species transmission potential between wild pigs, livestock, poultry, wildlife, and humans: implications for disease risk management in North America. *Sci. Rep.* 7(1), 1-14.
59. MOLINA R. M., W. CHITTICK, E. A. NELSON, J. CHRISTOPHER - HENNINGS, R. R. ROWLAND, J. J. ZIMMERMAN (2008): Diagnostic performance of assays for the detection of anti-Porcine reproductive and respiratory syndrome virus antibodies in serum and muscle transudate (“meat juice”) based on samples collected under experimental conditions. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 20(6), 735-743.
60. MONTROYA J. M., O. LIESENFELD (2004) Toxoplasmosis. *Lancet.* 363, 1965–1976.
61. MOUSING, J., P. THODE - JENSEN, C. HALGAARD, F. BAGER, N. FELD, B. NIELSEN, J. P. NIELSEN, S. BECH-NIELSEN (1997): Nation-wide *Salmonella enterica* surveillance and control in Danish slaughter swine herds. *Prev. Vet. Med.* 29, 247– 261.
62. NESBAKKEN, T., T. IVERSEN, K. ECKNER, B. LIUM (2006): Testing of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pig herds based on the natural dynamic of infection. *Int. J. Food. Microbiol.* 111(2), 99-104.
63. NIELSEN, B., D. BAGGESEN, F. BAGER, J. HAUGEGAARD, P. LIND, (1995): The serological response to *Salmonella* serovars Typhimurium and infantis in experimentally infected pigs. The time course followed with an indirect anti-LPS ELISA and bacteriological examinations. *Vet. Microbiol.* 47, 205-218.
64. NIELSEN, B., C. HEISEL, A. WINGSTRAND (1996): Time course of the serological response to *Yersinia enterocolitica* O:3 in experimentally infected pigs. *Vet. Microbiol.* 48, 293-303.
65. NIELSEN B., L. EKEROTH, F. BAGER, P. LIND (1998): Use of muscle fluid as a source of antibodies for serologic detection of *Salmonella* infection in slaughter pig herds. *J. Vet. Diagn. Invest.* 10(2), 158-163.
66. NIELSEN, J. (2003): *Salmonella* Dublin in cattle; use of diagnostic tests for investigation of risk factors and infection dynamics. PhD Thesis. The Royal Veterinary and Agricultural University, London, Pp. 205-218.
67. NINIOS, T., J. LUNDÉN, H. KORKEALA, M. FREDRIKSSON – AHOMAA (Eds.). (2014). *Meat inspection and control in the slaughterhouse.* John Wiley & Sons.

68. NORRUNG, B. i S. BUNČIĆ (2008): Microbial safety of meat in the European Union. *Meat Sci.* 78(1-2), 14-24.
69. O'BRIEN, S., (2005): Foodborne zoonoses. *Br. Med. J* 331, 1217– 1218.
70. OLSEN, A., M. SANDBERG, H. HOUE, H.V. NIELSEN, M. DENWOOD, T.B. JENSEN, L. ALBAN (2020): Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in sows and finishers from conventional and organic herds in Denmark: Implications for potential future serological surveillance. *Prev. Vet. Med.* 185, 105149.
71. OPSTEEGH, M., A. SWART, M. FONVILLE, L. DEKKERS, J. VAN DER GIESSEN (2011): Age-related *Toxoplasma gondii* seroprevalence in Dutch wild boar inconsistent with lifelong persistence of antibodies. *PLoS. One.* 6: e16240.
72. PAVIO, N., J. M. MANSUY (2010): Hepatitis E in high-income countries. *Current opinion in infectious diseases*, 23(5), 521-527.
73. PAVIO, N., X. J. MENG, C. RENOU (2010): Zoonotic hepatitis E: animal reservoirs and emerging risks. *Vet. Res.* 41(6), 46
74. POINTON, A., I. JENSON, D. JORDAN, P. VANDERLINDE, J. SLADE, J. SUMNER (2006): A risk profile of the Australian red meat industry: approach and management. *Food Control*, 17(9), 712-718.
75. RACKA, K., E. BÁRTOVÁ, M. BUDIHOVÁ, P. VODRAZKA (2015): Survey of *Toxoplasma gondii* antibodies in meat juice of wild boar (*Sus scrofa*) in several districts of the Czech Republic. *Ann. Agric. Environ. Med.* 22(2).
76. RICHOMME, C., E. AFONSO, V. TOLON, C. DUCROT, L. HALOS, A. ALLIOT, C. PERRET, M. THOMAS, P. BOIREAU, E. GILOT – FROMONT (2010): Seroprevalence and factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in wild boar (*Sus scrofa*) in a Mediterranean island. *Epidemiol. Infect.* 138, 1257–1266.
77. RUIZ - FONS F., J. VICENTE, D. VIDAL, U. HÖFLE, D. VILLANÚA, C. GAUSS, J. SEGALÉS, S. ALMERÍA, V. MONTORO, C. GORTÁZAR (2006): Seroprevalence of six reproductive pathogens in European wild boar (*Sus scrofa*) from Spain: the effect on wild boar female reproductive performance. *Theriogenology*; 65: 731–743.
78. SAHLSTRÖM, L., T. VIRTANEN, J. KYRÖ, T. LYTIKÄINEN (2014): Biosecurity on Finnish cattle, pig and sheep farms - results from a questionnaire. *Prev. Vet. Med.* In press.

- 79.SANNÖ, A., A. ASPÁN, G. HESTVIK, M. JACOBSON (2014): Presence of *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis* and *Escherichia coli* O157:H7 in wild boars. *Epidemiol. Infect.* 142(12), 2542–2547.
- 80.SMITH, D.B., P. SIMMONDS, S. JAMEEL, S. U. EMERSON, T. J. HARRISON, X. J. MENG, H. OKAMOTO, W. H. M. VAN DER POEL, M. A. PURDY (2014) International Committee on the Taxonomy of Viruses Hepeviridae Study Group. Consensus proposals for classification of the family Hepeviridae. *The Journal of general virology.* 95(Pt. 10), 2223–2232.
- 81.SOLAYMANI-MOHAMMADI, S., W. A. PETRI JR (2006): Zoonotic implications of the swine-transmitted protozoal infections. *Vet. Parasitol.* 140(3-4), 189-203.
- 82.SPIŠÁK, F., L. TURČEKOVÁ, K. REITEROVÁ, S. ŠPILOVSKÁ, P. DUBINSKÝ (2010): Prevalence estimation and genotypization of *Toxoplasma gondii* in goats. *Biologia*, 65(4), 670-674.
- 83.STÄRK, K.D.C., A. WINGSTRAND, J. DAHL, V. MØGELMOSE, D. M. A. LO FO WONG (2002): Differences and similarities among experts' opinions on *Salmonella enterica* dynamics in swine pre-harvest. *Prev. Vet. Med.* 53, 7– 20.
- 84.STEGE, H., J. DAHL, J. CHRISTENSEN, D.L. BAGGESEN, J.P. NIELSEN, P. WILLEBERG (1997): Subclinical *Salmonella* infection in Danish finishing pig herds: risk factors. *Proceedings of the Second International Symposium on Epidemiology and Control of Salmonella in Pork.*
- 85.VAN DER GIESSEN, J., M. FONVILLE, M. BOUWKNEGT, M. LANGELAAR, A. VOLLEMA (2007): Seroprevalence of *Trichinella spiralis* and *Toxoplasma gondii* in pigs from different housing systems in The Netherlands. *Vet. Parasitol.* 148, 371-374.
- 86.VAN DER WOLF, P.J., D. M. A. LO FO WONG, W. B. WOLBERS, A. R. W. ELBERS, H. M. J. F. VAN DER HEIJDEN (2001): A longitudinal study of *Salmonella enterica* infection in high and low-seroprevalence finishing herds in the Netherlands. *Vet. Q.* 23, 116– 121.
- 87.VANANTWERPEN, G., K. HOUF, I. VAN DAMME, D. BERKVENS, L. DE ZUTTER (2013): Estimation of the within-batch prevalence and quantification of human pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pigs at slaughter. *Food Control* 34, 9–12.

88. VANANTWERPEN, G., I. VAN DAMME, L. DE ZUTTER, K. HOUF (2014): Seroprevalence of enteropathogenic *Yersinia* spp. in pig batches at slaughter. *Prev. Vet. Med.* 116(1-2), 193-196.
89. WACHECK S, M. FREDRIKSSON – AHOMAA, M. KÖNIG, A. STOLLE, R. STEPHAN (2010): Wild boars as an important reservoir for foodborne pathogens. *Foodborne Pathog. Dis.* 7(3), 307–312.
90. WACHECK, S., E. SARNO, E. MÄRTLBAUER, C. ZWEIFEL, R. STEPHAN (2012): Seroprevalence of anti-hepatitis E virus and anti-Salmonella antibodies in pigs at slaughter in Switzerland. *J. Food. Prot.* 75(8), 1483-1485.
91. WALLANDER C., J. FRÖSSLING, I. VÅGSHOLM, A. BURRELLS, A. LUNDÉN (2015): “Meat juice” is not a homogeneous serological matrix. *Foodborne Pathog. Dis.*, 12(4), 280-288.
92. WALLGREN P., M. PERSSON (2000): Relationship between the amounts of antibodies to *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 detected in blood serum and in fluids collected from muscles of pigs. *J. Vet. Med. B.* 47(10), 727-737.
93. WEISS, L. M., J. P. DUBEY (2009). Toxoplasmosis: A history of clinical observations. *Int J. Parasitol.* 39(8), 895-901. r 2019.
94. WINGSTRAND A., P. LIND, J. HAUGEGAARD, S. A. HENRIKSEN, V. BILLE - HANSEN, V. S ØRENSENS (1997): Clinical observations, pathology, bioassay in mice and serological response at slaughter in pigs experimentally infected with *Toxoplasma gondii*. *Vet. Parasitol.* 72(2), 129–140.
95. WIUFF, C., B. M. THORBERG, A. ENGVALL, P. LIND (2002): Immunochemical analyses of serum antibodies from pig herds in a *Salmonella* non-endemic region. *Vet. Microbiol.* 85, 69-82.
96. WRAY C., R. H. DAVIES (2000): *Salmonella* infections in cattle. *Salmonella in domestic animals.* 169-190.
97. YONEMITSU, K., S. MINAMI, K. NOGUCHI, R. KUWATA, H. SHIMODA, H., K. MAEDA (2018): Detection of anti-viral antibodies from meat juice of wild boars. *J. Vet. Med. Sci.* 18-0576.

- 98.ZDOLEC, N. (2017): Novi trendovi u sustavima sigurnosti mesa. Veterinarski dani 2017. znanstvenostručni skup s međunarodnim sudjelovanjem. (Opatija, 25. – 28. 10. 2017.). Zbornik radova (81- 85).
- 99.ZDOLEC, N. (2019): The role of veterinarians in food safety. 8th International Congress Veterinary science and profession 2019. (Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, 10-12 October.
- 100.ZDOLEC, N., I. FILIPOVIĆ, V. DOBRANIĆ (2013): Inspekcija mesa u Europskoj uniji – stanje i perspektive. Zbornik radova Veterinarski dani 2013, Opatija 9. – 12. 10. 2013., str. 61-66.



## 6. SAŽETAK

### **Kosmina, T. A.: Primjena serologije mesnog soka u inspekciji mesa**

Postoje brojni patogeni uzročnici koji se mogu prenijeti mesom, poput *Toxoplasma gondii*, *Salmonella* spp., *Yersinia* spp. i hepatitis E virus (HEV) te postaju bitan javnozdravstveni problem. Do onečišćenja mesa domaćih životinja može doći u raznim fazama proizvodnje, od farme do stola. Stoga se provode serološka ispitivanja mesnog soka kako bi se utvrdila prevalencija navedenih uzročnika u domaćim životinjama. Također, s obzirom da mesni sok ima nižu razinu specifičnih antitijela od seruma, trebala bi se provesti standardizacija razrjeđenja mesnog soka te odabir mišića za pretragu. Dobiveni podaci o seroprevalenciji mogu se koristiti kao temelj u analizi rizika te se u tom sklopu predlaže korištenje sveobuhvatnog sustava osiguravanja sigurnosti mesa prema kojem se farme mogu kategorizirati prema riziku. Radi očuvanja javnog zdravlja potrebno je uspostaviti što efikasniju i ekonomski isplativiju inspekciju mesa kako bi se modernizirali sustavi kontrole i upravljanja sigurnošću hrane.

Ključne riječi: mesni sok, serologija, inspekcija mesa, *Toxoplasma gondii*, *Salmonella* spp., *Yersinia* spp., hepatitis E virus

## 7. SUMMARY

### **Kosmina, T. A.: Application of meat juice serology in meat inspection**

There are a number of pathogens that can be transmitted through meat, such as *Toxoplasma gondii*, *Salmonella* spp., *Yersinia* spp., and hepatitis E virus (HEV) and are becoming an important public health problem. Contamination of domestic animal meat can occur at various stages of production, from the farm to the table. Therefore, serological tests of meat juice are performed to determine the prevalence of these pathogens in domestic animals. Also, since meat juice has a lower level of specific antibodies than serum, standardization of meat juice dilution and selection of muscles for examination should be performed. The obtained data on seroprevalence can be used as a basis in risk analysis, and in this context it is proposed to use a comprehensive system to ensure meat safety, according to which farms can be categorized according to risk. In order to preserve public health, it is necessary to establish the most efficient and economically viable meat inspection in order to modernize food safety control and management systems.

Keywords: meat juice, serology, meat inspection, *Toxoplasma gondii*, *Salmonella* spp., *Yersinia* spp., Hepatitis E virus

## **8. ŽIVOTOPIS**

Rođen sam 18. 11. 1992. u Calgary-u. Osnovnoškolsko obrazovanje završio sam u O. Š. Ljubljana. Srednjoškolsko obrazovanje završio sam u gimnaziji Lucijana Vranjanina. 2011. godine upisujem integrirani preddiplomski I diplomski studij veterinarske medicine na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija pohađao sam brojne izvan nastavne aktivnosti te radio brojne studentkse poslove.