

**METODE KONTROLE HRANE ZA GOVEDA RADI
PREVENIRANJA BOVINE SPONGIFORMNE
ENCEFALOPATIJE (BSE)***
*CONTROL METHODS FOR CATTLE FEEDSTUFFS AIMED AT
PREVENTION OF BOVINE SPONGIFORM ENCEPHALOPATHY (BSE)*

Ksenija Nešić**

Tokom poslednjih dekada dvadesetog veka prvi put je u istoriji otkriveno više od 30 novih bolesti. Bovina spongiformna encefalopatija (BSE) ili „bolest ludih krava” je jedna od njih. To je subakutna neurodegenerativna transmisivna spongiformna encefalopatija prvi put dijagnostikovana i opisana u Velikoj Britaniji 1986. godine.

Kako je postavljena teorija o prenošenju BSE putem hrane, odnosno, mesno koštanog brašna (MKB) koje sadrži infektivni protein preživara, širom sveta je ustanovljena legislativa sa ciljem da se izbegne ulazak MKB u lanac ishrane. Potpuna zabrana upotrebe mesno koštanog brašna (MKB) za sve farmske životinje (izuzev ribljeg brašna za nepreživare) i adekvatan termički tretman u proizvodnji MKB (133°C, 3 bar, 20 min.) osnov su EU legislative. Regulativa u našoj zemlji obuhvata zabranu korišćenja MKB u hrani za goveda i zabranu uvoza goveđeg proteina.

Sprovođenje legislative širom sveta zahteva odgovarajuća analitička sredstva. U ovom momentu nekoliko mogućnosti je dostupno: optička mikroskopija, PCR, imunoprobe, spektroskopske metode i nekoliko drugih koje se još ispituju u ove svrhe.

Sve analitičke metode se primenjuju sa ciljem da se kontroliše sprovođenje aktuelnih propisa, ali i otkrije eventualna unakrsna kontaminacija koja može da nastane u fabrikama hrane za životinje, tokom transportovanja, skladištenja ili na farmama, naročito kada ne postoje odvojene linije za hranu koja sadrži MKB i onu u kojoj su i tragovi zabranjeni.

Za uspešnu kontrolu i prevenciju bovine spongiformne encefalopatije goveda u našoj zemlji, kao i radi nesmetanog nastavljanja integracionih procesa sa Evropskom unijom, potrebno je da se stvori adekva-

* Rad primljen za štampu 23. 6. 2006. godine

** Mr sc. vet. Ksenija Nešić, istraživač saradnik, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd

tan sistem nadzora ove bolesti, ne samo zbog bezbednosti hrane kao preduslova za dobro zdravlje ljudi, već i iz komercijalnih razloga, kao jedini način za aktivno učešće na svetskom tržištu.

Ključne reči: analitičke metode, BSE, kontrola hrane

Uvod / Introduction

Promene u načinu na koji naseljavamo planetu utiču na ekološke sisteme i narušavaju ravnotežu mikrobijalnog sveta, a kao rezultat tih promena pojavljuju se nove bolesti u nepredvidivim srazmerama. U poslednjim dekadama 20. veka više od 30 novih bolesti je otkriveno prvi put u istoriji. Bovina spongiformna encefalopatija (BSE) ili „bolest ludih krava” je jedna od njih [9].

BSE je subakutna neurodegenerativna transmisivna spongiformna encefalopatija prvi put dijagnostikovana i opisana u Velikoj Britaniji u novembru 1986. godine kao potpuno novo fatalno oboljenje goveda. Prouzrokuje je prion, nov i neispitan dodatak svetu patogenih mikroba i atipičan infektivni agens. Utvrđeni su neoborivi epidemiološki i naučni dokazi o povezanosti BSE sa varijant-Krojfeld-Jakobsonovom bolešću ljudi (v-CJD) koja je takođe prvi put opisana u Velikoj Britaniji i to 1996. godine.

Razlog da se bolest najpre pojavi u Velikoj Britaniji, sa stanovišta geneze, verovatno nikada neće biti utvrđen. Ali, skrepi bolest ovaca bi mogao da bude faktor koji je doprineo prenošenju i umnožavanju BSE. Postoji hipoteza da su visoka učestalost skrepi bolesti i naknadna upotreba mesno koštanog brašna, dobijenog iz materijala sa infektivnim tkivom ovaca procesuiranog u kafilerijama na nižim temperaturama kontinualnog kuvanja i skraćenom procedurom zbog nekorišćenja rastvarača, dva kombinovana faktora koja su najverovatniji uzroci [8].

Danas učestalost BSE opada u Evropskoj uniji kao rezultat strogih kontrola u borbi sa bolešću. Kako je postavljena teorija o prenošenju BSE putem hrane, odnosno, mesno koštanog brašna (MKB) koje sadrži infektivni protein preživara, širom sveta je ustanovljena legislativa sa ciljem da se izbegne ulazak MKB u lanac ishrane. Mesno koštano brašno kao dobar izvor esencijalnih amino-kiselina u upotrebi je u obrocima za životinje u laktaciji i porastu, mada u našoj zemlji prvenstveno za svinje i živinu. Međutim, ono može da se nađe i u obrocima za preživare kao rezultat unakrsne kontaminacije kada se na istim linijama u fabrikama hrane proizvode smeše sa i bez MKB, tokom transportovanja kada se koriste ista transportna sredstva bez prethodnog odgovarajućeg čišćenja i pranja, ili tokom skladištenja i na farmama usled slučajnih ili namernih grešaka.

Analitičke metode / Analytical methods

Sprovođenje legislative širom sveta zahteva odgovarajuća analitička sredstva. Potpuna zabrana upotrebe mesno koštanog brašna (MKB) za sve farm-

ske životinje (izuzev ribljeg brašna za nepreživare) i adekvatan termički tretman u proizvodnji MKB (133°C, 3 bar, 20 min.) deo su EU legislativne [6, 7]. Regulativa u našoj zemlji obuhvata zabranu korišćenja MKB u hrani za goveda [5] i zabranu uvoza govedeg proteina [3], a prvi put na aktivni nadzor obavezuje Naredba o preduzimanju mera za sprečavanje pojavljivanja, otkrivanje, sprečavanje širenja, suzbijanje i iskorenjivanje TSE iz marta 2006. godine [4]. Najvažniji i najteži zadatak koji treba da ispune analitičke metode je otkrivanje unakrsne kontaminacije koja podrazumeva prisustvo nepoželjnih proteina životinjskog porekla u tragovima. U ovom momentu dostupno je nekoliko mogućnosti [2].

Optička mikroskopija / Optic microscopy je jedina zvanična metoda u EU koja predstavlja najprihvatljiviji način da se otkrije prisustvo MKB u hrani za farm-ske životinje sa mogućnošću da se uoči razlika između ribljeg brašna i MKB dobijenog od sisara [1]. Predmet posmatranja su kosti, mišići i druga tkiva i delovi životinjskog tela. Posmatranju pod različitim uveličanjima prethodi pravilna priprema uzorka, odnosno, sedimentacija. Sediment sadrži mineralne partikule, uključujući kosti, a u flotatu su organski delovi, prvenstveno biljni, ali i mišići. Limit detekcije za ovu metodu je manje od 0,1% MKB u hrani, što zahteva visoku stručnost analitičara, a prosečan dnevni broj uzoraka koji može da se pregleda je do deset.

PCR (Polymerase Chain Reaction) pripada grupi molekularno bioloških metoda, koja se bazira na detekciji vrste DNK. Izvodi se kroz tri primarna koraka: DNK ekstrakcija, uvećanje specifičnih DNK sekvenci i vizualizacija uvećanih DNK fragmenata. Ovo je, za sada, najpouzdaniji način za identifikaciju vrsta. To je kvalitativna metoda sa limitom detekcije oko 0,5% MKB u hrani. Zahteva skupu opremu i visoku stručnost analitičara.

Imunološke probe / Immunological probes zasnivaju se na detekciji specifičnih proteina. Procedura počinje rastvaranjem ili ekstrakcijom proteina, potom sledi reakcija sa antitelima i na kraju vizualizacija signala. Među mnogim prednostima ove metode, kao što su jeftinija oprema i jednostavnije izvođenje, postoje takođe veoma važni nedostaci: još uvek ona nije u potpunosti prolagođena za pouzdanu identifikaciju vrsta (istraživanja za unapređivanje metode u ovom pravcu su u toku), a limit detekcije je 5% MKB u hrani, što je suviše visoka vrednost kada je neophodno da se otkriju tragovi koji su rezultat unakrsne kontaminacije.

Postoje, takođe, i neke druge metode primenljive radi kontrole hrane za životinje, ali su se pokazale manje uspešnim ili su još uvek nedovoljno ispitane u ove svrhe:

NIRS (Near-Infrared Spectroscopy) je zasnovana na vibraciji organskih grupa: O-H, C-H, N-H. Međutim, ovo nije odgovarajuća metoda za identifikaciju životinjskih vrsta, limit detekcije je visok (3-5% MKB u hrani) i pouzdanost rezultata je loša.

NIRM (Near-Infrared Microscopy) predstavlja analizu čistog spektra svake partikule u uzorku (kosti i slično) i potom njihovu klasifikaciju. Međutim, ovo je daleko skuplja metoda od klasične optičke mikroskopije.

NIR kamera je metodologija slična NIR mikroskopiji, s tim da je znatno brža (500 partikula u 5 minuta) i bez ograničenja u pogledu veličine partikula, ali je cena instrumenta izuzetno visoka.

HPLC (High Pressure Liquid Chromatography) je metoda kojom se detektuju dipeptidi (karnozin i slično), međutim, još uvek nije dovoljno ispitana u ove svrhe.

„*Elektronski nos*“ / *Electronic nose* je skup instrument dizajniran za prepoznavanje isparljivih supstancija koji bi u budućnosti možda mogao da bude interesantan pristup za brzi pregled materijala.

Zaključak / Conclusion

S obzirom na našu aktuelnu zakonsku regulativu kojom se propisuje zabrana upotrebe životinjskih hraniva u smešama za goveda, neophodna je kontrola prvenstveno u fabrikama ove vrste hrane, naročito kada se u njima na istoj liniji proizvodi i hrana za druge životinjske vrste u kojoj je dozvoljeno prisustvo ovih komponenata. Mikroskopija je po svojim mogućnostima najadekvatnija metoda. Naredba o preduzimanju mera za sprečavanje pojavljivanja, otkrivanje, sprečavanje širenja, suzbijanje i iskorenjivanje TSE (Sl. glasnik RS 17/06) obavezuje na ovu vrstu monitoringa, pri tom propisujući mikroskopiju kao analitičko sredstvo, što govori o tendenciji približavanja evropskim standardima i napretku na ovom planu.

Međutim, bezbednost na ovom polju neophodno je da se obezbedi i nizom drugih mera počevši od obeležavanja goveda, edukacije na ovu temu svih koji učestvuju u odgajanju životinja, od farmera do veterinara, dobre organizacije i svesti o mogućoj opasnosti i kritičnim tačkama od klanica do kafilerija, pa do primene odgovarajuće kontrole u delu uvoza.

Uspostavljanje funkcionalnog sistema i adekvatnog nadzora i kontrole bolesti neophodno je ne samo zbog bezbednosti hrane kao preduslova za dobro zdravlje ljudi, već je i jedini način da se obezbedi aktivno učešće na svetskom tržištu, kao i da se omogući nastavak integracionih procesa sa Evropskom unijom. Samo jedan od koraka ka tome je primena odgovarajućih analitičkih metoda u kontroli hrane za životinje, odnosno hrane za goveda.

Literatura / References

1. Commission directive 2003/126/EC of 23 December 2003 on the analytical method for the determination of constituents of animal origin for the official control of feedingstuffs. - 2. Frick Genevieve: Principi detekcije animalnih delova u hrani za životinje, Kurs „Nadzor i analiza stočne hrane vezano za TSE“, Bern, 2004. - 3. Naredba o preduzimanju mera za sprečavanje unošenja zarazne bolesti životinja spongiformne encefalopatije goveda (BSE) u Republiku Srbiju, Sl. glasnik 120/2004. - 4. Naredba o preduzimanju mera za sprečavanje pojave, otkrivanje, sprečavanje širenja, suzbijanje i iskorenjivanje TSE, Sl. glasnik RS 17/06. - 5. Pravilnik o izmenama i dopunama Pravilnika o kvalitetu i drugim

zahtevima za hranu za životinje, Sl. list SRJ 38/2001. - 6. Regulation (EC) No 1774/2002 on Animal By-Products not intended for human consumption. - 7. Regulation (EC) No 999/2001 of the European Parliament and of the Council of 22 May 2001 laying down rules for the prevention, control and eradication of certain transmissible spongiform encephalopathies. - 8. The rendering industry: A retrospective analysis of BSE policy, Feedstuffs, Vol. 70, N° 35, 1998. - 9. WHO: Understanding the BSE threat. www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/bse/en, 2002.

ENGLISH

CONTROL METHODS FOR CATTLE FEEDSTUFFS AIMED AT PREVENTION OF BOVINE SPONGIFORM ENCEPHALOPATHY (BSE)

Ksenija Nesic

In the course of the last decades of the twentieth century, more than 30 new diseases were determined for the first time in history. Bovine spongiform encephalopathy (BSE), or „mad cow disease” is one of them. The disease implies the subacute neurodegenerative transmission of spongiform encephalopathy and it was diagnosed and described for the first time in Great Britain in 1986.

A theory has been established that BSE is spread through feedstuffs, more precisely, meat-bone flour which contains infective proteins of ruminants, and legislature has been passed throughout the world with the objective of preventing the entry of meat-bone flour into the food chain. The complete ban of the use of meat-bone flour for all farm animals (with the exception of fish flour for non-ruminants) and an adequate thermal treatment in the production of meat-bone flour (133°C, 3 bar, 20 min) are the elements on which the European Union (EU) legislature is based. The regulations in our country include a ban on the use of meat-bone flour in cattle feedstuffs and a ban on imports of beef proteins.

The implementation of this legislature throughout the world requires the corresponding analytical means. At the present time, there are several available possibilities: optic microscopy, PCR, immunoprobes, spectroscopic methods, and several others which are still being examined for use for this purpose.

All the analytical methods are being applied with the objective of controlling the implementation of the current regulations, but also in order to discover possible cross contamination that could take place in factories of animal feedstuffs, during transportation, storage, or on farms, in particular when there are no separate lines for feedstuffs that contains meat-bone flour and others in which even its traces are banned.

In order to secure the successful control and prevention of bovine spongiform encephalopathy in our country, as well as to secure the unhindered continuation of the integration processes with the European Union, it is necessary to create an adequate system for the monitoring of this disease, not only because of food safety as a precondition for the good health of people, but also for commercial reasons, as that is the only way to have an active role on the world market.

Key words: analytical methods, BSE, food control

МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ КОРМА ДЛЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ЦЕЛЬЮ БОВИНОЙ СПОНГИФОРМНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ (БСЭ)

Ксения Нешич

В течение последних десятилетий двадцатого века впервые в истории открыто больше от 30 новых болезней. Бовиная спонгиформная энцефалопатия (БСЭ), или „болезнь сумасшедших коров” одна из них. Это подострая нейродегенеративная трансмиссивная спонгиформная энцефалопатия в первый раз диагностирована и описана в Великобритании 1986. года.

Как поставлена теория о перенесении БСЭ путём корма, или мясно костной муки (МКМ), содержащая инфекционный протеин жвачных животных, по всему миру установлена легислатива с целью избегать вход МКМ в цель кормления. Полное запрещение употребления мясно костной муки (МКМ) для всех фермных животных (за исключением рыбьей муки для нежвачных животных) и адекватное термическое лечение в производстве МКМ (133°C, 3 бар, 20 мин.) основа ЕУ легислативы. Регулятива в нашей стране охватывает запрещение пользования МКМ в корме для крупного рогатого скота и запрещение ввоза говяжьего протеина.

Проведение легислативы по всему миру требует соответствующие аналитические средства. В этом моменте несколько возможности доступно: оптическая микроскопия, ПЦР, иммунопробы, спектроскопические методы и несколько других, которые ещё испытываются в эти цели.

Все аналитические методы применяются с целью контролировать проведение актуальных правил, но и открыть эвентуальную крестообразную контаминацию, которая может возникнуть в фабриках корма для животных, в течение транспорта, складирования или на фермах, особенно, когда не существуют отдельные линии для корма, содержащего МКМ и тот в котором и следы запрещены.

С целью успешного контроля и превенции бовиной спонгиформной энцефалопатии крупного рогатого скота в нашей стране, словно и ради беспрепятственного продолжения интеграционных процессов с Европейской унией, нужно создать адекватную систему надзора этой болезни, не только из-за безопасности корма как предварительного условия для хорошего здоровья людей, уже и из коммерческих причин, как единственный способ для активного участия на мировом рынке.

Ключевые слова: аналитические методы, БСЭ, контроль корма