

Učestalost serovarova *Salmonella* spp. u pilećem mesu s područja sjeverozapadne Hrvatske



V. Jaki Tkalec*, S. Furmeg, M. Bukvić, M. Cvetnić, J. Sokolović, P. Mustapić, K. Sokolić, M. Mikulić i Ž. Cvetnić

Sažetak

Salmoneloza je jedna od najučestalijih zoonoza koja se prenosi hranom, a najčešći izvor zaraze za ljude je kontaminirano meso i prerađevine od mesa peradi. Tijekom petogodišnjeg razdoblja od 2016. do 2020. godine provedeno je istraživanje tijekom kojeg je na *Salmonellu* spp., pretraženo 2457 uzoraka pilećeg mesa koje je uzorkovano u klaonicama i mesnicama na području Međimurske, Varaždinske, Koprivničko-križevačke, Bjelovarsko-bilogorske i Zagrebačke županije. *Salmonella* spp. je izdvojena iz 136 (5,5 %) obrađenih uzoraka. Godine 2016. ustvrđena je u 5 (6 %) pretraženih uzoraka, 2017. godine u 41 (4,7 %) uzorku, 2018. godine u 33 (6,1 %) uzoraka, 2019. godine u 26 (6,6 %) uzoraka i u 2020. godini u 31 (5,4 %) uzoraka. Serološkom tipizacijom *S. Infantis* je identificirana u 86 (63,2 %) izdvojenih izolata; *S. Typhimurium* u 8 (5,9 %) izolata; a *S. Enteritidis* je tipizirana u 3 (2,2 %)

izdvojena izolata. Tipizirani su i slijedeći serovarovi salmonela: *S. Corvallis* - 5 izolata (3,7 %), *S. Isaszeg* - 5 izolata (3,7 %), *S. Derby* - 3 izolata (2,2 %), *S. Give* - 2 izolata (2,2 %), *S. Indiana* - 2 izolata (2,2 %), i po 1 izolat u 7 (5,1 %) serovara (*S. Schwarzengrund*, *S. Goldcoast*, *S. Chester*, *S. Bredeney*, *S. Mbandaka*, *S. Newport*, *S. Saintpaul*). U 15 (11%) izolata tipizacija nije izvršena. *S. Infantis* je tijekom svih godina bila najčešće potvrđeni serovar. Salmoneloza predstavlja znatan gospodarski problem zbog šteta u intenzivnoj proizvodnji, ali i kao zoonoza koja se mesom i mesnim prouzvodima od mesa peradi širi na ljude. Provedbom odgovarajućih higijenskih mjera i dobre higijenske prakse od peradarskih farmi i klaonica do prodajnih mjesta moglo bi se doprinijeti manjoj kontaminaciji pilećeg mesa različitim serovarovima *Salmonella* spp.

Cljučne riječi: *Salmonella*, *S. Infantis*, pileće meso, proširenost, Hrvatska

Dr. sc. Vesna JAKI TKALEC*; dr. med. vet., znanstvena suradnica, (dopisni autor, e-mail: jaki.vzk@veinst.hr), Sanja FURMEG, dipl. sanit. ing., dr. sc. Maja BUKVIĆ, mag. ing. bioproc., mag. ing. agr., Hrvatski veterinarski institut - Veterinarski zavod Križevci, Hrvatska; Marija CVETNIĆ, dr. med. vet., asistentica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; Jadranka SOKOLOVIĆ, dr. med. vet., viša stručna suradnica; Hrvatski veterinarski institut - Veterinarski zavod Križevci, Hrvatska; Petra MUSTAPIĆ, dipl. ing. univ. spec., ID EKO d.o.o. Zagreb, Hrvatska; Krunoslav SOKOLIĆ, dr. vet. med., MM Mesna industrija d.o.o., Krašić, Hrvatska; dr. sc. Marina MIKULIĆ, dr. med. vet., znanstvena suradnica, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Željko CVETNIĆ, dr. med. vet., akademik, Hrvatski veterinarski institut - Veterinarski zavod Križevci, Hrvatska

Uvod

Salmonella (*S.*) spp. je uzročnik jedne od najučestalijih zoonoza u javnom zdravstvu. Infekcija se širi izravnim i neizravnim kontaktom sa životinjama, njihovim okolišem i hranom (Wibisono i sur., 2020.). Najčešće se prenosi hranom, a glavni izvori zaraze za ljude su kontaminirano meso i mesne prerađevine životinja, osobito meso i prerađevine mesa peradi. Usprkos uspješnosti mjera suzbijanja salmoneloze koje se provode u peradarskoj i prehrambenoj industriji, pojavljuju se i šire dobro prilagođeni sojevi u različitim zemljopisnim regijama, a antimikrobna rezistencija na netifusnu salmonelu smatra se jednom od najčešćih prijetnji javnom zdravstvu vezanom uz proizvodnju hrane i životinja, uglavnom u proizvodnom lancu peradi i mesa peradi (Antunes i sur., 2016.).

Salmonela je Gram negativna bakterija koja pripada obitelji *Enterobacteriaceae* (Barrow i Methner, 2013.). Rod *Salmonella* sadrži dvije vrste: *S. enterica* i *S. bongori*, ali unutar svake vrste postoje podvrste i mnogi serovarovi (Brenner i sur., 2000.). Vrsta *S. enterica* podijeljena je u šest podvrsta koje se međusobno razlikuju prema biokemijskim svojstvima (*S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae* i *S. enterica* subsp. *indica*). Prema shemi koju su razvili Kaufmann i White na temelju razlika u somatskim (O), flagelarnim (H) i kapsularnim (Vi) antigenima označava se antigena formula salmonela i određuje serovar. Zbog kombinacija podvrsta i brojnih serovarova, puna imena salmonela su vrlo duga, zbog čega je opće prihvaćena uporaba skraćenog oblika za serovarove koji pripadaju podvrsti *enterica* koji se i najučestalije izdvajaju iz domaćih životinja i ljudi i označeni su imenima obično dobivenim prema zemljopisnom nazivu mjesta gdje su prvi put izdvojeni

(Habrun, 2014.). Najrasprostranjenija metoda koja se koristi za razlikovanje različitih vrsta i serovarova *Salmonella* je serološka tipizacija koja se radi postupkom brze aglutinacije na predmetnici i s odgovarajućim antiserumima određuju se somatski, flagelarni i/ ili kapsularni antigen. Do danas je identificirano 46 O antigena i 114 H antigena koji u različitim kombinacijama daju više od 2600 prijavljenih serovarova (Brenner i sur., 2000., Issenhuth-Jeanjean i sur., 2014.).

Na temelju podataka CDC (engl. *Center for Disease Control and Prevention*) u 2019. godini u ljudi su najčešće zabilježeni serovarovi *S. Enteritidis*, *S. Newport*, *S. Javiana* i *S. Infantis*. *S. Enteritidis* je najčešći uzročnik infekcija salmonelom u SAD još od 2007. godine, a incidencija se nije smanjila. Zabilježeno je znatno povećanje infekcije *S. Infantis*, a pojavljuju se infekcije novim, vrlo otpornim sojem koji je dokazan u piletini. Infekcije sa *S. Typhimurium* se smanjuju, što bi moglo biti povezano s raširenom praksom cijepjenja pilića (CDC, 2019.). Salmoneloza je poslije kampilobakterioze druga najčešća bolest koja se prenosi hranom u Europskoj Uniji (EU), a godišnje se prijavi više od 91 000 slučajeva u ljudi (EFSA, 2021.). Primijećeno je smanjenje slučajeva salmoneloze u EU od čak 32% u razdoblju od 2008. do 2012. godine, što je posljedica uspješnih mjera suzbijanja salmoneloze. Mjere uključuju stalni nadzor, biosigurnost i cijepjenje peradi protiv salmonela, a usredotočene su na najučestalije serovarove *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium* koji su najveća prijetnja javnom zdravstvu (Foley i sur., 2011., Hugas i Beloeil, 2014.).

Prisutnost salmoneloze u peradi smatra se rizičnim čimbenikom za onečišćenje mesa i jaja. Kako bi se spriječio zoonotski prijenos salmonela, Nacionalni programi kontrole salmoneloze u EU doprinijeli su smanjenju prevalencija salmoneloze u peradi (Pate i sur., 2019.). Isto tako, primijećen je znatan trend

opadanja slučajeva humane salmoneloze, ali i dalje se salmoneloza smatra jednim od glavnih uzročnika epidemija koja se prenose hranom u EU. Najčešći prijavljeni serovarovi u ljudi u EU godine 2017. bili su *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium* (EFSA, 2018.). Promjena serovarova salmoneloze povezane s peradi i proizvodnjom mesa peradi povezana je sa širenjem određenih serovarova. Uočen je porast *S. Infantis* od 26,5 % u infekciji ljudi, a isti serovar je četvrti najčešći dokazan u brojlera i mesu brojlera (Antunes i sur., 2016.). U EU je *S. Infantis* bio najčešće prijavljivani serovar u jatima i mesu brojlera. *S. Infantis* predstavlja važnost i za javno zdravstvo jer se često izdvaja iz ljudi (EFSA, 2018.). Hengl i sur. (2016.) proveli su istraživanje na prisutnost *Salmonella* spp., s posebnim osvrtom na *S. Infantis* u smrznutom i svježem pilećem mesu na tržištu Republike Hrvatske. Obradili su 474 uzorka, a bakterije iz roda *Salmonella* ustvrdili su u 51 (10,8 %) obrađenih uzoraka. Najzastupljenija je bila *S. Infantis* u čak 88,2 % istraživanih uzoraka.

Cilj našeg petogodišnjeg istraživanja od 2016. do 2020. godine bio je ustvrditi učestalost kontaminacije pilećeg mesa na *Salmonella* spp. i tipizirati serovarove koji se javljaju na području Međimurske, Varaždinske, Koprivničko-križevačke, Bjelovarsko-bilogorske i Zagrebačke županije.

Materijal i metode

Tijekom petogodišnjeg razdoblja (2016.-2020. godine) uzorkovano je i pretraženo na *Salmonellu* spp. 2457 uzoraka pilećeg mesa kategoriziranog kao porcionirano meso i meso u malim komadima sakupljenih u klaonicama i mesnicama na području Međimurske, Varaždinske, Koprivničko-križevačke, Bjelovarsko-bilogorske i Zagrebačke županije. Porcionirano meso i meso u malim komadima uzorkovano je na kraju

proizvodnog procesa u fazi otpreme iz klaonice ili u maloprodajnom objektu proizvođača sve do isteka roka trajanja. Uzorci su dostavljani u laboratorij u prijenosnom hladnjaku u kontroliranim uvjetima uz održavanje hladnog lanca i istog su dana stavljeni na obradu.

Izdvajanje bakterija. Za izdvajanje bakterija korištena je međunarodna standardna normirana metoda - horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti, određivanje broja i serotipizaciju *Salmonella* – 1. dio: Dokazivanje prisutnosti *Salmonella* spp. (HRN EN ISO 6579:2003, HRN EN ISO 6579-1:2017). Ispitni dio sačinjavao je 25 g uzorka mesa koji je razrijeđen s 225 mL puferirane peptonske vode (Biokar, Francuska). Za rast salmonela korištene su dvije selektivne podloge: XLD (engl. *xylose lysine deoxycholate agar*) (Biokar, Francuska) i RAMBACH agar (Merck, Njemačka). Za biokemijsku potvrdu bakterijskih vrsta *Salmonella* korišten je TSI agar (engl. *triple sugar iron agar*) (Merck, Njemačka) i automatizirani sustav Vitek2 Compact (bioMérieux, Francuska) s Vitek2 ID GN identifikacijskom karticom. Rezultati biokemijskog testiranja VITEK2 sustavom po završetku očitavanja izraženi su s postotkom pouzdanosti identifikacije. Za serološku potvrdu i identifikaciju korišteni su polivalentni i monovalentni serumi (SSI Diagnostica, Danska). Prisustvo *Salmonella* O-, H- i Vi- antigena dokazano je aglutinacijom čistih kolonija, tehnikom brze aglutinacije na predmetnici s odgovarajućim serumima i to nakon eliminacije auto-aglutinirajućih sojeva. Nomenklatura serovarova i shema serološke tipizacije rađena je prema White-Kauffmann-Le Minor shemi (Grimont i Weill, 2007.).

Rezultati

Tijekom istraživanog razdoblja obrađena su 2457 uzoraka mesa pilića, a *Salmonella* spp. izdvojena je iz 136 (5,5%) obrađenih uzoraka. Najviše uzoraka

Tabela 1. Prikaz broja pretraženih i pozitivnih uzoraka mesa peradi na *Salmonella* spp. tijekom istraživano razdoblja od 2016. do 2020. godine

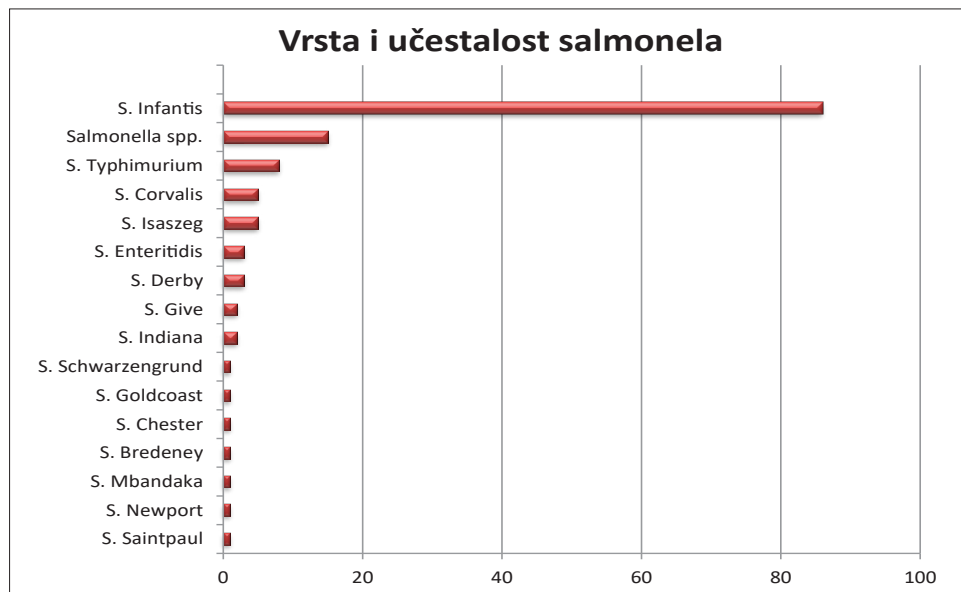
Godina	Broj obrađenih uzoraka	Broj pozitivnih uzoraka	%	Utvrđeni serovarovi salmonela (broj)
2016.	83	5	6	<i>Salmonella</i> ser. Enteritidis (1) <i>Salmonella</i> ser. Infantis (4)
2017.	865	41	4,7	<i>Salmonella</i> ser. Infantis (33) <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium (1) <i>Salmonella</i> ser. Give (2) <i>Salmonella</i> ser. Enteritidis (1) <i>Salmonella</i> ser. Derby (1) <i>Salmonella</i> spp. (3)
2018.	540	33	6,1	<i>Salmonella</i> ser. Infantis (25) <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium (4) <i>Salmonella</i> ser. Indiana (2) <i>Salmonella</i> ser. Schwarzengrund (1) <i>Salmonella</i> ser. Derby (1)
2019.	395	26	6,6	<i>Salmonella</i> ser. Infantis (13) <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium (2) <i>Salmonella</i> ser. Goldcoast (1) <i>Salmonella</i> ser. Chester (1) <i>Salmonella</i> ser. Derby (1) <i>Salmonella</i> ser. Bredeney (1) <i>Salmonella</i> ser. Mbandaka (1) <i>Salmonella</i> ser. Corvallis (3) <i>Salmonella</i> spp. (3)
2020.	574	31	5,4	<i>Salmonella</i> ser. Infantis (11) <i>Salmonella</i> ser. Isaszeg (5) <i>Salmonella</i> ser. Corvallis (2) <i>Salmonella</i> ser. Newport (1) <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium (1) <i>Salmonella</i> ser. Enteritidis (1) <i>Salmonella</i> ser. Saintpaul (1) <i>Salmonella</i> spp. (9)
Ukupno	2457	136	5,5	<i>Salmonella</i> ser. Infantis (86) <i>Salmonella</i> spp. (15) <i>Salmonella</i> ser. Typhimurium (8) <i>Salmonella</i> ser. Corvallis (5) <i>Salmonella</i> ser. Isaszeg (5) <i>Salmonella</i> ser. Enteritidis (3) <i>Salmonella</i> ser. Derby (3) <i>Salmonella</i> ser. Give (2) <i>Salmonella</i> ser. Indiana (2) <i>Salmonella</i> ser. Schwarzengrund (1) <i>Salmonella</i> ser. Goldcoast (1) <i>Salmonella</i> ser. Chester (1) <i>Salmonella</i> ser. Bredeney (1) <i>Salmonella</i> ser. Mbandaka (1) <i>Salmonella</i> ser. Newport (1) <i>Salmonella</i> ser. Saintpaul (1)

(865) obrađeno je 2017. godine, a najviše pozitivnih uzoraka (6,6%) ustvrđeno je 2019. godine (tabela 1.). Serološkom tipizacijom najčešće je identificiran serovar *S. Infantis* u 86 (63,2%) izdvojenih izolata, zatim serovar *S. Typhimurium* u 8 (5,9%) izolata, a serovar *S. Enteritidis* tipizirana je u 3 (2,2%) izdvojena izolata. Tipizirani su i sljedeći serovarovi salmonela koji su manje značajni: *S. Corvallis* - 5 izolata (3,7%), *S. Isaszeg* - 5 izolata (3,7%), *S. Derby* 3 izolata (2,2%), *S. Give* - 2 izolata (2,2%), *S. Indiana* - 2 izolata (2,2%), *S. Schwarzengrund* - 1 izolat (0,7%), *S. Goldcoast* - 1 izolat (0,7%), *S. Chester* - 1 izolat (0,7%), *S. Bredeney* - 1 izolat (0,7%), *S. Mbandaka* - 1 izolat (0,7%), *S. Newport* - 1 izolat (0,7%), *S. Saintpaul* - 1 izolat (0,7%). U 15 (11%) izolata nije provedena tipizacija soja. Tijekom svih godina istraživanja *S. Infantis* je dominirala, godine 2016. identificirana je u 4 (80%) od 5 izdvojenih izolata *Salmonella* spp., u 2017. u 33 (80,5%) od 41 izolata, u 2018. u 25 (75,8%) od 33 izolata, 2019. u 13 (56,5%)

od 26 izolata i u 2020. godini u 11 (35,5%) od 31 izolata (slika 1., tabela 1.).

Rasprava

Salmoneloza je zoonoza koja se osim u ljudi javlja i u brojnih životinjskih vrsta, a osobito su važne salmonele koje se prenose hranom. Učestalost salmoneloze javlja se razmjerno često, a povezana je s masovnom, javnom prehranom i industrijskom proizvodnjom hrane životinjskog podrijetla. Prisutnost salmoneloze u peradi smatra se rizičnim čimbenikom za onečišćenje mesa i jaja. Kako bi se spriječio prijenos salmoneloze na ljude, u EU su uspostavljeni Nacionalni programi kontrole salmoneloze u peradi s ciljem smanjenja prevalencije određenih serovarova, a osobito onih koji imaju zoonotski potencijal, prvenstveno *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium* (Messens i sur., 2013.). Većina država članica EU ispunila je ciljeve u smanjenju salmonele u peradi te je prevalencija salmonele u peradi u znatnom padu. Istodobno,



Slika 1. Prikaz učestalosti izdvojenih serovarova *Salmonella* tijekom istraživanog razdoblja

u razdoblju od 2008. do 2012. godine primijećen je znatan trend opadanja pojave salmoneloze u ljudi. Unatoč dobrim pokazateljima *Salmonella* spp. je uz kampilobakteriozu i dalje među glavnim uzročnicima epidemija koja se prenosi hranom u EU. Tijekom 2017. godine najčešće infekcije u ljudi prouzročene su *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium*. Statistički značajan trend smanjenja potvrđenih slučajeva salmoneloze u ljudi primijećen je između 2008. i 2017., ali posljednjih pet godina (2013.- 2017.) ukupni trend nije pokazivao statističko smanjenje ni povećanje. Međutim, uočena je značajna pojava *S. Infantis*. U EU *S. Infantis* je bio najčešće prijavljivani serovar dokazan u jatima i mesu brojlera. *S. Infantis* postala je značajna i u javnom zdravstvu zbog čestog izdvajanja iz ljudi i taj serovar je zauzeo četvrto mjesto među deset serovarova koji prouzročite infekcije u ljudi (EFSA, 2018.).

Tijekom naših petogodišnjih istraživanja uzoraka pilećeg mesa, *Salmonella* spp. je izdvojena iz 136 (5,5 %) obrađenih uzoraka, a tipizacijom je najčešće dokazana *S. Infantis* u 63,2 % izdvojenih izolata, zatim *S. Typhimurium* u 5,9 % i *S. Enteritidis* u 2,2 % uzoraka. Ostali dokazani serovarovi (17,6 %) su manje značajni, a u 15 (11 %) izolata nije provedena tipizacija. Tijekom svih godina istraživanja *S. Infantis* je dominirala u visokom postotku, a u nekim godinama tipizirana je u 80 % izolata. Prema podacima Hrvatske agencije za hranu (2017.) prevalencija salmoneloze u jatima peradi je u 2015. godini bila 5,9 %, a 2016. u 5,7 %. Najučestaliji serovarovi *Salmonella* spp. bili su *S. Infantis*, *S. Mbandaka*, *S. Enteritidis* i drugi. Tijekom 2015. i 2016. godine najveći broj *Salmonella* spp. dokazan je u mesu svinja ili peradi (2,71 % u 2015. i 3,65 % u 2016.), u mesu peradi dominirala je *S. Infantis*, a u mesu svinja ustvrđeni su različiti serovarovi *Salmonella* spp. Listeš i sur. (2013.) opisuju učestalost serovarova *Salmonella* spp. u hrani i hrani za životi-

nje na području Dalmacije u razdoblju do 2007. do 2009. godine. *Salmonella* spp. je dokazana u 8,3 % obrađenih uzoraka mesa peradi, u 4,5 % mesnih pripravaka, 3,4 % mesa iz klaonica, 2,2 % konfekcioniranom mesu i u manjem postotku u drugim uzorcima. Najzastupljeniji su bili serovarovi *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Montevideo*, *S. Tennessee* i drugi, a tipizirano je 19 različitih serovarova. U Austriji je u ranijim istraživanjima (2005.-2006.) od 363 istraživanih farmi brojlera dokazana pojava *Salmonella* spp. u 28 (7,7 %) jata. Najučestaliji serovar je tada bio *S. Enteritidis*, zatim *S. Typhimurium*, *S. Montevideo*, a u samo 0,6 % dokazan je serovar *S. Infantis* (Lassnig i sur., 2012.). Pieskus i sur. (2006.) istraživali su rasprostranjenost salmoneloze u piletini u Litvi i dokazali su da je prevalencija po godinama iznosila od 1 % do 3,2 %. Najrašireniji serovarovi su bili *S. Enteritidis*, *S. Infantis* i *S. Typhimurium*, a istovjetni serovarovi javljali su se i u ljudi. Madden i sur. (2011.) proveli su istraživanje u proizvodima od sirove pilettine kako bi ustvrdili prevalenciju salmoneloze u Republici Irskoj. *Salmonella* je bila dokazana u 5,1 % uzoraka, ali serovarovi koji su ustvrđeni u piletini prouzročili su manje od 7 % salmoneloze u ljudi. Smatra se da su kontrola i nadzor na farmama pilića bile uspješne i da u Irskoj sirova pilettina nije značajan uzrok salmoneloze u ljudi. *Salmonella* u brojlera javlja se i u drugim državama svijeta. U Alžiru su istraživanja salmoneloze u peradi pokazala da je prevalencija na farmama pilića iznosila 63,1 %, na farmama purana 34,9 %, a dominirao je serovar *S. Kentucky* u 65,1 % izolata (Mezali i sur., 2019.). Voss-Rech i sur. (2019.) navode nalaz pozitivnih uzoraka na salmonelozu u nekoliko velikih uzgajališta brojlera u Brazilu te dokazuju da je većina izolata 87,5 % pripadalo serovaru *S. Heidelberg*. U Japanu, Torii i sur., (2019.) ustvrdili su na temelju sadašnjih i u usporedbi s ranijim studijama da je u Japanu na farmama brojlera dominira se-

rovar *S. Agona*. U Kini Zhao i sur. (2016.) opisuju nalaz salmoneloze u 12,7 % istraživanih uzgoja pilića i kokoši, a najčešće je tipizacijom dokazan serovar *S. Enteritidis* (81,6 %), zatim *S. Indiana* (13,2 %) i *S. Typhimurium* (5,3 %). Choi i sur. (2014.) su tijekom svoje studije istraživanja rasprostranjenosti salmoneloze u lancu opskrbe brojlera u Koreji obradili 1214 uzoraka u lancu proizvodnje brojlera od farmi, kamiona, klaonica i maloprodaje pilećeg mesa. Najveća prevalencija je dokazana u kamionima za prijevoz brojlera (71,4 %), u klaonicama pilića (63,9 %) i na farmama brojlera (16,1 %). U izolatima salmonela dominirao je serovar *S. Hadar*.

Od 2010. godine zabilježen je znatan porast infekcije jata brojlera serovarom *S. Infantis*. Broj pozitivnih jata povećao se za više od 100 % u samo dvije godine. Unatoč primjeni svih sanitarnih mjera tijekom odmora objekta ovaj uzročnik je i dalje prisutan na određenim gospodarstvima (Pate i sur., 2019.). Rezultati naših istraživanja slični su s nalazima *S. Infantis* u zemljama EU i drugim istraživanjima u Republici Hrvatskoj. Hengl i sur. (2016.) navode da je *S. Infantis* bila najčešće prisutan serovar (88,2 %) u istraživanim uzorcima mesa u Republici Hrvatskoj. Istraživanjem je bilo obuhvaćeno 75 % uzoraka pilećeg mesa iz domaće proizvodnje i 25 % iz uvoza, a *S. Infantis* je češće bila prisutna u uzorcima domaće proizvodnje. *S. Infantis* dokazana je češće u zamrznutom mesu (14,3 %) nego u svježem (8,8 %). *S. Infantis* je dokazana u pilećem mesu uvezenom iz Mađarske (26,6 %), Slovačke (40 %), Poljske 3,1 % i Italije (3,1 %). Jurinović i sur. (2015.) proveli su istraživanje salmoneloze u uzgojima peradi u Republici Hrvatskoj u razdoblju od 2010. do 2014., *Salmonella* spp. je dokazana u 357 (1,9 %) obrađenih uzoraka, a tipizacijom je u 81 (22,69 %) izolata dokazana *S. infantis*. Broj jata brojlera pozitivnih na *S. Infantis* povećao se od 0,7 % 2010. godine na 11,5 %

u 2017. godini. U razdoblju od 2013. do 2015. godine u provedbi Nacionalnog programa praćenja zoonoza u Sloveniji, *S. Infantis* je otkrivena u 4,5 % uzoraka. Najviša prevalencija je dokazana u svježem mesu brojlera (28,4 %) i u mesnim pripravcima od brojlera (26,7 %) (Pate i sur., 2019.). Na razini EU, kako je izvješteno iz svih članica 2017. godine, *S. Infantis* činila je oko 50,6 % svih salmonela izdvojenih iz jata brojlera i mesa brojlera, što pokazuje značajnu raširenost ovoga serovara u proizvodnji, okolišu i industriji peradarskog mesa, odnosno duž cijelog lanca proizvodnje (EFSA, 2018.). Miller i sur. (2010.) navode da je najveća učestalost serovara *S. Infantis* u brojlera utvrđena u Mađarskoj (87 %), u Poljskoj (19 %) i Češkoj (13 %). U Njemačkoj je pojava *S. Infantis* iznosila 3,9 % u jatima nesilica i u 8,9 % jata brojlera. Smatra se da je do promjene prevladavajućih salmonela serovarova u ekološkoj niši došlo zbog cijepjenja peradi sa serovarovima *S. Typhimurium* i *S. Enteritidis*, a smanjene navedenih serovarova dovelo je do povećanja *S. Infantis* koja danas dominira u uzgojima peradi u EU. *S. Enteritidis* pojavila se kao glavni patogen povezan s jajima krajem XX. stoljeća. Epidemiološki podatci iz Engleske, Walesa i Sjedinjenih Država ukazuju da je *S. Enteritidis* ispunio ekološku nišu ispražnjenu iskorjenjivanjem *S. Gallinarum* iz peradi, što je dovelo do porasta epidemije u ljudi uzrokovani *S. Enteritidis* (Rabsch i sur., 2000.).

Poznato je da je eradikacija salmonela iz peradarstva uz metode čišćenja i dezinfekciju često puta u terenskim uvjetima neučinkovita (Davies i Breslin, 2003.). Sprječavanje kontaminacije salmonelom mesa i proizvoda od peradi zahtijeva detaljno poznavanje najvažnijih čimbenika rizika povezanih s njegovom prisutnošću u proizvodnom sustavu. Rezultati istraživanja su pokazali da su najvažniji čimbenici

rizika za onečišćenje salmonelom prašina, kontaminirane površine i izmet. Jednodnevni pilići brojlera dospjeli su na farmu već kontaminirani, a površine i izmet su presudni u cirkuliranju salmonele unutar farme. Bez obzira na podrijetlo različitih serovarova, oko 50 % je moglo proizvesti biofilm. Uporeba glutaraldehida i formaldehida u koncentraciji od 1,0 % u terenskim uvjetima nisu dovoljni za eliminaciju salmonele, bez obzira na serovar, sposobnost razvoja biofilma i vrijeme kontakta s dezinficijensom (Marin i sur., 2009.). Biofilmovi povećavaju mikrobnu toleranciju na kemijske, fizikalne i biološke agense, a sposobnost stvaranja biofilмова prepoznata je kao važan, ali ne i jedini čimbenik koji doprinosi opstanku bakterija u okolišu (Vestby i sur., 2009.). Opstojnost salmonela u peradnjacima tumači se i nepostojanjem standardiziranih smjernica za čišćenje i dezinfekciju, neprecizne uporabe dezinficijensa, pogrešne tvrdoće i temperature vode za čišćenje (Marin i sur., 2009.). U jednoj studiji provedenoj nakon čišćenja i dezinfekcije farme brojlera prije ponovnog naseljavanja, utvrđena je prisutnost *S. Infantis* u više od 50 % uzetih uzoraka okoliša, uključujući pod, ventilatore, pojilice, čizme i perilice. To ukazuje na nepravilne i neučinkovite sanitarne postupke u čišćenju i dezinfekciji peradnjaka (Pate i sur. 2019.). Salmonele često onečiste meso peradi prilikom različitih faza u procesu klanja i obrade mesa peradi kao što su: čupanje perja, evisceracija, pranje, pohranjivanje, rashlađivanje i zamrzavanje te kontaminacija putem ruku radnika, opreme ili prostora, stoga je od izuzetnog značenja provedba higijensko-sanitarnih mjera te pravilno čišćenje i dezinfekcija objekata (Levak, 2015.).

Salmoneloza predstavlja znatan gospodarski problem zbog šteta u intenzivnoj proizvodnji, ali i kao zoonoza

koja se mesom i proizvodima od mesa peradi širi na ljude. To rezultira pojavom desetaka milijuna infekcija ljudi godišnje u svijetu. U EU se svake godine prijavi oko 100 000 slučajeva s procijenjenim troškovima od oko 3 milijarde eura godišnje. U SAD broj slučajeva doseže i do milijun godišnje uz troškove od 3,3 milijarde dolara. Brojke se odnose i na uništavanje kontaminirane hrane, gubitak i produktivnosti radnika te troškove zdravstvene zaštite (Hoffman i sur., 2012., Diep i sur., 2019.). U Republici Hrvatskoj je 2019. godine prema podatcima HZJZ zabilježeno 1320 infekcija prouzročenih salmonelom (HZJZ, 2020.). Dželalija i sur. (2015.) navode da je tijekom promatranog desetgodišnjeg razdoblja (2005.-2014. godine) najčešća zoonoza u Hrvatskoj bila salmoneloza, a u tom razdoblju dokazana je u 29 462 slučajeva u rasponu od 5619 u 2005. do 1254 slučajeva u 2013. godini.

Zaključak

Budući da u Hrvatskoj nema puno istraživanja o prevalenciji salmonela u pilećem mesu, temeljem našeg istraživanja i učestalosti od 5,5 % i usporedbe s ranijim istraživanjima Hengel i sur. (2016.) gdje je prevalencija za 2015. godinu iznosila 10,8 % može se zaključiti da je došlo do pada zaraze, iako je naše istraživanje bilo provedeno na području sjeverne Hrvatske i u samo nekoliko županija. U izdvojenim izolatima *Salmonella* spp. u pilećem mesu dominirao je serovar *S. Infantis*. Istraživanje Jurinović i sur. (2015.) potvrdilo je da je zastupljenost *S. Infantis* najčešća i u uzgojima brojlera u Republici Hrvatskoj. Povećana prisutnost *S. Infantis* u pilećem mesu po svemu sudeći je posljedica provođenja cijepjenja s *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium*, kao što je to potvrđeno i u drugim zemljama EU. Nalaz salmonele u mesu peradi isto se tako može pripisati slabijoj higijenskoj praksi u pojedinim klaonicama i prodajnim objektima pilećeg mesa.

Provođenjem higijenskih mjera i dobre higijenske prakse od peradarskih farmi, klaonica i prodajnih objekata moglo bi se doprinijeti manjoj kontaminaciji pilećeg mesa.

Literatura

1. ANTUNES, P., J. MOURÃO, J. CAMPOS and L. PEIXE (2016): Salmonellosis: the role of poultry meat. *Clin. Microbiol. Infect.* 22, 110-121.
2. BAROW, P. A. and U. METHNER (2013): In: *Salmonella in Domestic Animals*, 2nd ed.; CABI: Oxfordshire, UK, pp. 1-19.
3. BRENNER, F. W., R. G. VILLAR, F. J. ANGULO, R. TAUXE and B. SWAMINATHAN (2000): *Salmonella* Nomenclature. *J. Clin. Microbiol.* 38, 2465-2467.
4. CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (2019): FoodNet 2019 Preliminary Data (Final Update) 2019. Available online: <https://www.cdc.gov/foodnet/reports/prelim-data-intro-2019.html> (Pristupljeno 22. ožujka 2021).
5. CHOI, S. W., J. S. HA, B. Y. KIM, D. H. LEE, J. K. PARK, H. N. YOUN, Y. H. HONG, S. B. LEE, J. B. LEE, S. Y. PARK, I. S. CHOI and C. S. SONG (2014): Prevalence and characterization of *Salmonella* species in entire steps of single integrated broilers supply chain in Korea. *Poultry Sci.* 93, 1251-1257.
6. DAVIES, R. and M. BRESLIN (2003): Observations on *Salmonella* contamination of commercial laying farms before and after cleaning and disinfection. *Vet. Rec.* 152, 283-287.
7. DIEP, B., C. BARRETTO, A. C. PORTMANN, C. FOURNIER, A. KARCZMAREK, G. VOETS, S. LI, X. DENG and A. KLJIN (2019): *Salmonella* Serotyping; Comparison of the Traditional Method to a Microarray-Based Method and an *in silico* Platform Using Whole Genome Sequencing Dana. *Front. Microbiol.* 10: 2554.
8. DŽELALIJA, B., A. MEDIĆ, I. PEM NOVOSEL i S. SABLIC (2015): Zoonoze u Republici Hrvatskoj. *Infektološki glasnik* 35, 45-51.
9. EFSA (2018): The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2016. *EFSA Journal*, 16, 270.
10. EFSA (2021): The European Union One Health 2019 Zoonoses Report – *Salmonella*. *EFSA Journal* 19, 6406.
11. FOLEY, S. L., R. NAYAK, I. B. HANNING, T. J. JOHNSON, J. HAN and S. C. RICHE (2011): Population dynamics of *Salmonella enterica* serotypes in commercial egg and poultry production. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 4273-4279.
12. GRIMONT, P. A. D. and F. X. WEILL (2007): Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Institut Pasteur, Paris (9th edition).
13. HABRUN, B. (2014): U: Klinička veterinarska bakteriologija. Medicinska naklada. *Rod Salmonella*, str. 217-225.
14. HAH (2017): Godišnje izvješće o zoonozama u Hrvatskoj za 2015./16. godinu. *Salmoneloza*. Hrvatska agencija za hranu, str. 33-38.
15. HENGL, B., A. GROSS-BOŠKOVIĆ, K. VULJANIĆ, A. M. CRNIĆ, R. VAZDAR i J. PETRIĆ (2016):

Salmonella Infantis u pilećem mesu na tržištu u Hrvatskoj. *Meso* 18, 342-347.

16. HOFFMANN, S., M. B., BATZ and J. G. MORRIS (2012): Annual cost of illness and quality-adjusted life year losses in the United States due to 14 foodborne pathogens. *J. Food Prot.* 75, 1292-1302.
17. HRN EN ISO 6579:2003 – Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za otkrivanje *Salmonella* spp. Državni zavod za normizaciju i mjeriteljstvo.
18. HRN EN ISO 6579 -1:2017 – Mikrobiologija u lancu hrane – Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti, određivanje broja i serotipizaciju *Salmonella* – 1. dio: Dokazivanje prisutnosti *Salmonella* spp. Državni zavod za normizaciju i mjeriteljstvo.
19. HUGAS, M. and P. BELOEIL (2014): Controlling *Salmonella* along the food chain in the European Union – progress over the last ten years. *Euro Surveill.* 19 (19): 20804. doi: 10.2807/1560-7917.es2014.19.19.20804.
20. HZJZ (2020): Hrvatsko zdravstveno-statistički ljetopis za 2019. Zarazne bolesti u Hrvatskoj. *Salmoneloza*. HZJZ, str. 175 -176.
21. ISSNHUTH-JEANJEAN, S., P. ROGGENTIN, M. MIKOLEIT, M. GUIBOURDENCHE, E. DE PINNA, S. NAIR, P. I. FIELDS and F. X. WEILL (2014): Supplement 2008-2010 (No. 48) to the White-Kauffmann-le minor scheme. *Res. Microbiol.* 165, 526-530.
22. JURINOVIC, L., B. ŠIMPRAGA, F. KRSTULOVIĆ i M. SOKOLOVIĆ (2015): Pojavnost bakterije *Salmonella* Infantis u tovnih pilića u Hrvatskoj u razdoblju od 2010. do 2014. XI. Simpozij "Peradarski dani" (Šibenik, 13.-16. svibnja 2015.). *Zbornik radova*, str. 62-65.
23. LASSNIG, H., P. MUNCH, H. SCHLIESSING, E. OSTERREICHER, K. KOSTENZER, C. KORNSCHOBBER and J. KÖFER (2012): Prevalence of *Salmonella* spp. in Austrian broiler flocks in the context of the EU-wide baseline survey 2005-2006. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 125, 129-137.
24. LISTEŠ, I., I. ŠKOKO, T. DUJIC i A. KATIC (2013): Učestalost serovarova *Salmonella* u uzorcima hrane i hrane za životinje na području Dalmacije u periodu 2007-2009. godine. The 5th International Congress "Veterinary Science and Profession", Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. *Knjiga sažetaka*, str. 87.
25. LEVAK, S. (2015): *Campylobacter* spp. u mesu peradi. *Meso* XVII, 558-565.
26. MADDEN, R. H., L. MORAN, P. SCATES, J. MCBRIDE and C. KELLY (2011): *Campylobacter* and *Salmonella* in raw chicken on retail sale in the Republic of Ireland. *J. Food Prot.* 74, 1912-1916.
27. MARIN, C., A. HERNANDIZ and M. LAINEZ (2009): Biofilm development capacity of *Salmonella* strains isolated in poultry risk factors and their resistance against disinfectants. *Poultry Sci.* 88, 424-431.
28. MESSENS, W., L. VAVAS-ALEGRE, S. BASHIR, G. AMORE, P. ROMERO-BARRIOS and M. HUGAS (2013): Estimating the Public Health Impact of Setting Targets at the European Level for the Reduction of Zoonotic *Salmonella* in Certain Poultry Populations. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 10, 4836-4850.
29. MEZALI, L., F. MEBKHOUT, S. NOUICHI, S. BOUDJELLABA and T. MOSSADAK HAMDI (2019): Serotype diversity and slaughterhouse-level risk factors related to *Salmonella* contamination on poultry carcasses in Algiers. *J. Infect. Dev. Ctries.* 13, 384-393.

30. MILLER, T., R. PRAGER, W. RABSCH, K. FAHLHABER and M. VOSS (2010): Epidemiological relationship between *Salmonella* Infantis isolated of human and broiler origin. *Lohman Information*, 45, 27-31.
31. PATE, M., J. MIČUNOVIĆ, M. GOLOB, L. K. VESTBY and M. OCEPEK (2019): *Salmonella* Infantis in broiler flock in Slovenia: The prevalence of multidrug resistant strains with high genetic homogeneity and low biofilm-forming ability. *Biomed. Res. Int.* 981463, doi.10.1155/2019/4981463.
32. PIESKUS, J., J. MILIUS, I. MICHALSKIENE and G. ZAGRABNEVIENE (2006): The distribution of *Salmonella* serovars in chicken and humans in Lithuania. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 53, 12-16.
33. RABSCH, W., B. M. HARGIS, R. M. TSOLIS, R. A. KINGSLEY, K. H. HINZ, H. TSCHAPE and A. J. BAMBER (2000): Competitive exclusion of *Salmonella* Enteritidis by *Salmonella* Gallinarum in poultry. *Emerg. Infect. Dis.* 6, 443-448.
34. TORII, Y., E. YOKOYAMA, M. SEKI, H. SHIGEMURA, T. ISHIGE, K. YANAGIMOTO, K. UEMATSU, N. ANDO, T. FUJIMAKI and S. MURAKAMI (2019): Genetic characteristics of emerging *Salmonella* enterica serovar Agona strains isolated from humans in the prior period to occurrence of the serovar shift in broilers. *J. Vet. Med. Sci.* 81, 1117-1120.
35. VESTBY, L. K., T. MØRETRØ, S. LANGSRUD, E. HEIR and L. L. NESSE (2009): Biofilm forming abilities of *Salmonella* are correlated with persistence in fish meal and feed factories. *BMC Vet. Res.* 5, 20.
36. VOSS-RECH, D., B. KRAMER, V. SANTIAGO SILVA, R. REBELATTO, P. GIOVANI ABREU, A. CORDEBELLA and C. S. LUIZ VAZ (2019): Longitudinal study reveals persistent environmental *Salmonella* Heidelberg in Brazilian broilers farms. *Vet. Microbiol.* 233, 118-123.
37. WIBISONO, F. M., F. J. WIBISONO, M. H. EFFENDI, H. PLUMERIASTUTI, A. R. HIDAYATULLAH, E. B. HARTADI and E. D. SOFIANA (2020): A Review of Salmonellosis on Poultry Farms: Public Health Importance. *Sys. Rev. Pharm.* 11, 481-486.
38. ZHAO, X., Y. GAO, C. YE, L. YANG, T. WANG and W. CHANG (2016): Prevalence and characteristics of *Salmonella* isolated from free-range chickens in Shandong Province, China. *Biomed. Res. Int.* 818393, doi.10.1155/2016/8183931.

Frequency of *Salmonella* spp. serovars in poultry meat in northwest Croatia

Vesna JAKI TKALEC, DVM, PhD, Scientific Associate, Sanja FURMEG, BSc. Sanit. Ing., Maja BUKVIĆ, Mag. Ing. Bioproc., Mag. Agr., PhD, Croatian Veterinary Institute - Veterinary Department Križevci, Croatia; Marija CVETNIĆ, DVM, Assistant, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Jadranka SOKOLOVIĆ, DVM, Senior Professional Associate, Croatian Veterinary Institute - Veterinary Department Križevci, Croatia; Petra MUSTAPIĆ, BSc. Univ. Spec., ID EKO d.o.o. Zagreb, Croatia; Krunoslav SOKOLIĆ, DVM, MM Meat Industry d.o.o. Krašić, Croatia; Marina MIKULIĆ, DVM, PhD, Scientific Associate; Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia; Željko CVETNIĆ, DVM, PhD, Academician, Croatian Veterinary Institute - Veterinary Department Križevci, Croatia

Salmonellosis is one of the most important food-borne zoonoses, and the main sources of infection for humans are contaminated meat and poultry meat products. During the five-year period from 2016 to 2020, 2457 samples of poultry meat were tested for the presence of *Salmonella* spp. Samples were obtained from slaughterhouses and butcher shops in five counties: Međimurje, Varaždin, Koprivnica-Križevci, Bjelovar-Bilogora and Zagreb. *Salmonella* spp. was isolated from 136 (5.5%) processed samples during the study. In 2016, it was isolated in 5 (6%) of the tested samples, in 2017 in 41 (4.7%) samples, in 2018 in 33 (6.1%) samples, in 2019 in 26 (6.6%) samples, and in 2020 in 31 (5.4%) samples. The most common identified serovar was *S. Infantis* in 86 (63.2%) isolates, followed by *S. Typhimurium* in 8 (5.9%) isolates, and *S. Enteritidis* in 3 (2.2%) isolates. The following salmonella serovars were also identified: *S. Corvallis* - 5 isolates (3.7%), *S. Isaszeg* - 5 isolates (3.7%), *S. Derby*

3 isolates (2.2%), *S. Give* - 2 isolates (2.2%), *S. Indiana* - 2 isolates (2.2%), and 1 isolate each of 7 (5.1%) serovars (*S. Schwarzengrund*, *S. Gold-coast*, *S. Chester*, *S. Bredeney*, *S. Mbandaka*, *S. Newport*, *S. Saintpaul*). No identification was confirmed in 15 (11%) isolates. *S. Infantis* was the most common serovar during the study period. Salmonellosis is a significant economic problem due to damages in intensive production, but also as a zoonosis that can spread to humans through meat and poultry meat products. In identified isolates of *Salmonella* spp., the serovar *S. Infantis* dominated in chicken meat, which has been confirmed in earlier research in Croatia and other EU countries. Implementing appropriate hygiene measures and good hygiene practices from poultry farms and slaughterhouses to shops could contribute to lower contamination of chicken meat with different serovars of *Salmonella* spp.

Key words: *Salmonella*; *S. Infantis*; chicken meat; spread; Croatia