

ORIGINALNI ZNANSTVENI RAD

Zastupljenost i raznolikost serotipova *Salmonella* spp. kod peradi i divljih životinja: implikacije za javno zdravstvo u Bosni i Hercegovini

Sajma Huremović¹*, Selma Kunić¹, Dejana Krneta²

Sažetak

Salmoneloza ostaje jedan od vodećih zoonotskih izazova u suvremenoj proizvodnji brojlera, zbog visokog potencijala prijenosa putem hrane i dugotrajne perzistencije patogena na farmama. Cilj ovoga istraživanja bio je izolirati i identificirati serotipove *Salmonella* spp. iz komercijalnih jata brojlera na području Bosne i Hercegovine tijekom primarne faze proizvodnje te istražiti prisutnost serotipova od javnozdravstvenoga značaja. Istraživanje je obuhvatilo detaljnu analizu 1810 uzoraka prikupljenih tri tjedna prije planiranog klanja. Korištene su dvije komplementarne metode uzorkovanja: navlake za obuću (n = 1200) i uzorci fecesa (n = 610). Laboratorijska izolacija i identifikacija provedene su prema standardiziranoj metodi ISO 6579-1:2017, a serotipizacija prema White-Kauffmann-Le Minor shemi. Od ukupnog broja uzoraka, *Salmonella* spp. izolirana je u 36 slučajeva (1,98 %). Rezultati su pokazali da su navlake za obuću (2,3 %) osjetljiviji tip uzorka u usporedbi s uzorcima fecesa (1,5 %). Najdominantniji serotip bio je *S. Enteritidis* (80,5 %), a slijede ga *S. Typhimurium* (16,6 %) i *S. Senftenberg* (2,8 %). Dodatno je analizirano 14 izolata podrijetlom od divljih životinja (divlja patka, golub, činčila i suri orao), što je otkrilo prisutnost serotipova poput *S. Seremban* i *S. Reading*. Dominacija *S. Enteritidis* ukazuje na ozbiljan rizik za javno zdravstvo, jer je ovaj serotip najčešći uzročnik alimentarnih infekcija ljudi. Rezultati naglašavaju nužnost kontinuiranog nadzora i strožeg provođenja biosigurnosnih mjera na farmama.

Ključne riječi: *Salmonella* spp., serotipizacija, brojleri, divlje životinje, javno zdravstvo, Bosna i Hercegovina

Uvod

Bakterije roda *Salmonella* su Gram-negativni, fakultativno anaerobni, nesporogeni štapići iz porodice *Enterobacteriaceae*. Prema *Kauffmann-White* shemi, do danas je identificirano približno 2600 serotipova, od kojih većina posjeduje visok stupanj adaptacije na različite domaćine, uključujući ljude i toplokrvne životinje. Rezervoar infek-

cije je intestinalni trakt životinja koje su većinom supklinički izlučivači, čime doprinose perzistenciji patogena u okolišu. Primarni put infekcije ljudi i životinja je fekalno-oralni prijenos.

Salmoneloza i infekcije serotipovima značajnim za zdravlje peradi zastupljene su širom svijeta i rezultiraju ozbiljnim ekonomskim gubicima

¹ Mr. prim. mikrobiol. Sajma Huremović, spec.vet.med; MA Selma Kunić, dipl.preh.teh., JU Veterinarski zavod Tuzlanskog kantona, 2. tuzlanske brigade 28, 75000 Tuzla, Bosna i Hercegovina

² Dejana Krneta dr.vet.med., JU Veterinarski institut RS „Dr. Vaso Butozan“, Branka Radičevića 18, 78000 Banja Luka, Bosna i Hercegovina
*autor za korespondenciju: sajma.huremovic@vetzavodtk.ba

kada nisu pod adekvatnim mjerama kontrole. Veliki ekonomski gubici nastaju zbog visoke smrtnosti peradi tijekom prvih tjedana starosti, visokih troškova terapijanja, smanjenja proizvodnje jaja, loše kvalitete peradi i visokih troškova iskorjenjivanja i mjera kontrole. Međutim, najvažniji aspekt je trajni učinak na javno zdravlje konzumacijom mesa i mesnih proizvoda kontaminiranih salmonelom.

Kod peradi se serotipovi mogu svrstati u tri kategorije prema njihovoj adaptaciji i invazivnosti (Hafez, 2013.). Prvu grupu čine invazivni serotipovi visoko prilagođeni domaćinu, poput *S. Pullorum* i *S. Gallinarum* kod peradi, te *S. Typhi* kod čovjeka. Drugu grupu čine invazivni serotipovi koji nisu prilagođeni isključivo jednom domaćinu (generalisti), a obuhvaćaju oko 10 do 20 serotipova, koji uzrokuju infekcije i kod peradi i kod ljudi. Trenutno su najvažniji serotipovi ove grupe *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Hadar* i *S. Infantis*. Treću skupinu čine neinvazivni serotipovi koji nisu prilagođeni domaćinu i mogu uzrokovati bolest kod širokog spektra životinja i ljudi. Dominacija određenih serotipova u regijama varira; neki mogu biti prisutni godinama, a zatim biti zamijenjeni drugima (Hafez, 2013.).

Najznačajnije bolesti uzrokovane salmonelama u peradarstvu su puloroza (*S. Pullorum*), tifus (*S. Gallinarum*), paratifus (više serotipova, primarno *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium*) te arizonoza (*S. enterica* subsp. *arizonae*) (Shivaprasad i sur., 2013.). Tifus peradi i puloroza su septikemijske bolesti ponajprije kokoši i purana. Smatra se da je tifus bolest odraslih jedinki, dok je puloroza karakteristična za piliće i puriće (Barrow i sur., 2010.). Prvi opisi tifusa datiraju iz 1888. godine, dok je puloroza prvi put opisana 1900. godine kao „fatalna septikemija“ ili „bijela dijareja“ (Poppe, 2000.; Shivaprasad i sur., 2013.). Za razliku od njih, paratifoidne infekcije, o kojima je prvi izvijestio Moore (1895.), uzrokuju velike gubitke ponajprije kod mladih purića, gdje *S. Typhimurium* čini oko 50 % infekcija (Hafez i Jodas, 2000.). Arizonoza je specifična jer se prenosi jajima, a rezervoar mogu biti i gmizavci (Shivaprasad i sur., 2013.).

Prenošenje salmonela odvija se vertikalnim i horizontalnim putovima. Primarni vertikalni prijenos događa se preko jajnika ili prolaskom kroz jajovod, dok se sekundarni javlja kontaminacijom ljuske jajeta u kloaki ili gnijezdima (Hafez i Jodas, 2000.). Horizontalno širenje dokazano je unutar inkubatora, preko prašine, opreme i ventilacijskih kanala. Tijekom uzgoja na farmama infekcija se

širi izravnim dodirima, kontaminiranom hranom, vodom i vektorima. Nepravilno čišćenje i dezinfekcija nakon uklanjanja zaraženog jata često rezultiraju infekcijom narednog turnusa (Barrow i sur., 2010.). Faktori poput starosti jata, serotipa i stresa (loša ventilacija i uzgoj) izravno utječu na tijek i raširenost infekcije (Hafez i Jodas, 2000.).

S gledišta javnog zdravstva, salmoneloza je jedna od najčešćih ekonomski važnih zoonoza (OIE, 2018.). Centralno u patofiziologiji ljudskih salmoneloza je indukcija snažnog imunološkog i upalnog odgovora domaćina (Coburn i sur., 2007.). Čovjek se najčešće inficira konzumiranjem kontaminirane hrane animalnog porijekla, posebno mesa i jaja peradi (Antunes i sur., 2015.). Glavni put prenošenja je fekalno-oralni (Barrow i sur., 2010.). Akutne infekcije kod ljudi obuhvaćaju gastroenteritis, enteričnu groznicu, bakterijemiju ili ekstraintestinalne fokalne infekcije (Langridge i sur., 2012.).

Serotipovi poput *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium* imaju širok spektar domaćina i izazivaju bolesti i kod životinja i kod ljudi (Foley i sur., 2013.). Zanimljivo je da serotipovi strogo prilagođeni životinjama, poput *S. Gallinarum*, kod ljudi obično izazivaju blage simptome, dok serotipovi poput *S. Choleraesuis* (svinja) ili *S. Dublin* (goveda) mogu izazvati tešku sistemsku bolest kod čovjeka (Jajere, 2019.). Humana *S. enterica* dijeli se na tifoidnu i netifoidnu grupu (Langridge i sur., 2012.). Dok su netifoidne salmonele (NTS) generalisti, serotipovi *S. Typhi* i *S. Paratyphi* A, B i C visoko su prilagođeni čovjeku (Gal-Mor i sur., 2014.).

Procjenjuje se da se u svijetu godišnje javi oko 93,8 milijuna slučajeva gastroenteritisa uzrokovanih NTS infekcijama, s 155.000 smrtnih ishoda (Majowicz i sur., 2010.). U oko 5 % slučajeva, ove bakterije uzrokuju invazivnu, ekstraintestinalnu bolest poznatu kao iNTS (Gal-Mor i sur., 2014.). S druge strane, enterična groznica godišnje pogodi preko 27 milijuna ljudi, s više od 200.000 smrtnih slučajeva (Jones i sur., 2008.).

U Bosni i Hercegovini (BiH), unatoč intenzivnom peradarstvu, podaci o prevalenciji i raznolikosti serotipova u primarnoj proizvodnji, kao i kod divljih životinja koje služe kao rezervoari, su ograničeni. S obzirom na to da se mjere kontrole u BiH fokusiraju na pet ključnih serotipova (*S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Infantis*, *S. Virchow* i *S. Hadar*), neophodno je kontinuirano pratiti epidemiološku situaciju kako bi se spriječila kontaminacija lanca ishrane.

Cilj ovoga istraživanja bio je izolirati i iden-

tificirati sojeve *Salmonella* spp. na komercijalnim farmama brojlera u Bosni i Hercegovini te ustanoviti zastupljenost serotipova od javnozdravstvenoga značaja. Dodatno, istražena je prisutnost i raznolikost salmonela kod divljih životinja na istom području radi boljeg razumijevanja puteva širenja patogena u okolišu.

Materijali i metode

Istraživanje je obuhvatilo prikupljanje uzoraka na komercijalnim farmama brojlera na području Federacije Bosne i Hercegovine i Republike Srpske, Bosna i Hercegovina. Procedura uzorkovanja provedena je u skladu s Pravilnikom o mjerama u slučaju otkrivanja relevantnih serotipova salmonela od interesa za javno zdravstvo kod peradi („Sl. glasnik BiH“, br. 96/13) i Pravilnikom o ciljevima za smanjenje prisustva *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium* kod brojlera („Sl. glasnik BiH“, br. 102/12), koji su usklađeni s relevantnom EU legislativom (Uredba br. 200/2012). Radi se o ukupno 600 komercijalnih jata brojlera teške linije. Pri tome su iz svakog jata uzeti uzorci po dva para navlaka za obuču i po jedan reprezentativni uzorak fecesa. Odabir jata izvršen je metodom slučajnog uzorka među farmama koje su obuhvaćene redovnim godišnjim programom nadzora, a uzorkovanje je obavljeno jednokratno u svakom jatu, tri tjedna prije planiranog klanja. Analizirano je ukupno 1810 uzoraka, od čega 1200 navlaka za obuču i 610 uzoraka fecesa.

Sve farme posjeduju registraciju pri nadležnim organima i provode propisane biosigurnosne mjere, uključujući kontrolu pristupa, dezinfekcijske barijere i redovnu deratizaciju, što je preduvjet za komercijalni uzgoj peradi u BiH.

Postupak izolacije i identifikacije bakterija roda *Salmonella* proveden je u skladu sa standardom ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020 (*Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella – Part 1: Detection of Salmonella spp.*). Postupak je obuhvatio neselektivno obogaćivanje u puferiranoj peptonskoj vodi, nakon čega je uslijedilo selektivno obogaćivanje na modificiranom polučvrstom Rappaport-Vassiliadis (MSRV) agaru. Konačna biokemijska potvrda izolata obavljena je upotrebom komercijalnog identifikacijskog sustava API 20E (bioMérieux, Francuska) u skladu s uputama proizvođača.

Konačna identifikacija do razine serotipa provedena je u skladu sa smjernicama standarda ISO/TR 6579-3:2014. Specifični somatski (O) i flagelarni (H) antigeni određeni su metodom aglutinacije na predmetnici (Sifin Diagnostics GmbH, Berlin, Njemačka) prema *White-Kauffmann-Le Minor* shemi. Prije same procedure tipizacije, svaki izolat je podvrgnut provjeri na spontanu aglutinaciju. Izolati koji su pokazali autoaglutinaciju eliminirani su iz daljnjeg postupka kako bi se osigurala specifičnost i točnost serološkog odgovora. Za određivanje prisutnosti specifičnih somatskih (O), flagelarnih (H) i kapsularnih (Vi) antigena upotrijebljena je metoda aglutinacije na predmetnici uz primjenu visokospecifičnih monovalentnih i polivalentnih antiseruma (Sifin Diagnostics GmbH, Berlin, Njemačka).

Postupak identifikacije nepoznatih izolata pratio je strogo definiran hijerarhijski protokol podijeljen u četiri ključna koraka:

1. Inicijalna provjera O-antigena: upotreba polivalentnih antiseruma (OMA i OMB) za primarnu detekciju prisustva somatskih antigena.
2. Dodjeljivanje serogrupi: korištenjem grupno specifičnih antiseruma, izolati su klasificirani u odgovarajuće serogrupe (npr. Grupa B (O:4,5), Grupa D (O:9), Grupa C (O:6,7,8), Grupa E (O:3,10,15)).
3. Identifikacija monospecifičnim O-antiserumima: precizno definiranje somatske strukture izolata unutar utvrđene grupe.
4. Provjera flagelarnih (H) antigena: upotreba polivalentnih i monospecifičnih H-antiseruma za detekciju flagelarnih faza 1 i 2, što je ključno za finalnu nomenklaturu prema *White-Kauffmann-Le Minor* shemi.

Poseban fokus istraživanja bio je usmjeren na pet serotipova od najvećeg javnozdravstvenog značaja u Bosni i Hercegovini i Europskoj uniji (EFSA i ECDC, 2024; Pravilnik o mjerama, 2013). Ovi serotipovi (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* uključujući monofazne varijante, *S. Infantis*, *S. Virchow* i *S. Hadar*) prioritetni su u okviru nacionalnih i europskih programa kontrole zbog njihove visoke prevalencije u slučajevima salmoneloze kod ljudi uzrokovane konzumacijom mesa peradi. Za njihovu determinaciju primijenjen je specifični dijagnostički algoritam prikazan u Tablici 1.

U svrhu deskriptivne usporedbe i boljeg uvida u širu ekološku distribuciju salmonela, u proces serotipizacije uključeno je i 14 arhivskih

Tablica 1. Antigenski sastav pet najznačajnijih serotipova *Salmonella* spp.**Table 1** Antigenic formula of the five most significant *Salmonella* spp. serotypes

Serotip / Serotype	Somatski (O) antigen / Somatic (O) antigen	Flagelarni (H) antigen – Faza 1 / Flagellar (H) antigen – Phase 1	Flagelarni (H) antigen – Faza 2 / Flagellar (H) antigen – Phase 2
S. Typhimurium	O:4	H:i	H:1, 2
S. Enteritidis	O:9	H:g, m	-
S. Infantis	O:7	H:r	H:1, 5
S. Virchow	O:7	H:r	H:1, 2
S. Hadar	O:8	H:z10	H:x

izolata Veterinarskog fakulteta Univerziteta u Sarajevu, prikupljenih iz divljih i drugih životinja. Ovi izolati potječu od divljih patki (*Anas platyrhynchos*), golubova (*Columba livia*), činčila (*Chinchilla lanigera*) i surog orla (*Aquila chrysaetos*). Izolati su korišteni isključivo za kvalitativnu komparaciju diversifikacije serotipova prisutnih u okolišu u odnosu na izolate dobivene iz komercijalnih jata brojlera. U svrhu osiguranja kontrole kvaliteta rada, paralelno s ispitivanjem izolatima, testirani su referentni sojevi: S. Typhimurium (WDCM 00031), S. Enteritidis (WDCM 00030), S. Infantis CECT 700), S. Virchow (WDCM 00124) i S. Hadar (WDCM 00033).

Rezultati

Prevalencija i distribucija *Salmonella* spp. kod brojlera

U okviru ovog istraživanja ispitano je ukupno 1810 uzoraka porijeklom iz 600 komercijalnih jata brojlera s područja Federacije BiH i Republike Srpske. Prisustvo bakterija roda *Salmonella* potvrđeno je u 36 uzoraka, što predstavlja ukupnu zastupljenost od 1,98 %. Analizom rezultata prema tipu uzorka, utvrđeno je da su navlake za obuću pokazale veću učestalost detekcije patogena u objektu u usporedbi s uzorcima fecesa. Od 1200 uzoraka navlake, pozitivno je bilo 27 (2,25 %), dok je kod 610 uzoraka fecesa prisustvo salmonela potvrđeno u 9 slučajeva (1,47 %). Geografska distri-

bucija pozitivnih nalaza ukazuje na to da je najveći broj izolata (n=26; 72,2 %) identificiran u regijama s najintenzivnijom peradarskom proizvodnjom u oba entiteta, dok je preostalih 10 izolata (27,8 %) disperzirano na rubnim područjima uzorkovanja. Detaljan prikaz zastupljenosti u odnosu na tip uzorka dat je u Tablici 2.

Kulturelne i biokemijske karakteristike izolata

Svi ispitani izolati podrijetlom iz komercijalnih jata brojlera (n=36), kao i arhivski izolati divljih životinja (n=14), pokazali su tipične morfološke i uzgojne karakteristike roda *Salmonella*. Na selektivnim podlogama izolati su formirali karakteristične kolonije s crnim središtem na XLD agaru, dok su na *Brilliant Green* agaru kolonije bile neprozirne i ružičaste, što je sukladno propisanim kriterijima korištene ISO metode. Konačna biokemijska potvrda svih 50 izolata (n=50) provedena komercijalnim sustavom API 20E potvrdila je njihovu pripadnost vrsti *Salmonella enterica*, čime je osigurana visoka pouzdanost rezultata prije procesa serotipizacije.

Raznolikost serotipova kod brojlera

Serološka tipizacija otkrila je dominantnu zastupljenost serotipa S. Enteritidis, koji je izoliran u 29 od 36 pozitivnih uzoraka (80,5 %). Ovaj serotip identificiran je u oba entiteta, s najvećom koncentracijom u jatima na području sjeveroistočne Bosne. Drugi po učestalosti bio je serotip

Tablica 2. Učestalost izolacije *Salmonella* spp. u odnosu na vrstu ispitivanog uzorka kod brojlera**Table 2** Frequency of *Salmonella* spp. isolation in relation to the type of sample tested in broilers

Vrsta uzorka / Sample type	Broj analiziranih uzoraka (n) / Number of samples analyzed (n)	Broj pozitivnih uzoraka / Number of positive samples	Prevalencija (%) / Prevalence (%)
Navlake za obuću / Over-boot swabs	1200	27	2,3 %
Feces / Feces	610	9	1,5 %
UKUPNO / TOTAL	1810	36	1,98 %

S. Typhimurium sa 6 izolata (16,6 %), koji je zabilježen ponajprije u uzorcima navlaka za obuću, dok je

S. Senftenberg zabilježen u jednom uzorku (2,8 %) na lokalitetu u centralnoj Bosni (Tablica 3).

Tablica 3. Zastupljenost identificiranih serotipova u pozitivnim uzorcima brojlera
Table 3 Distribution of identified serotypes in positive broiler samples

Serotip / Serotype	Navlake za obuću / Over-boot swabs (n=27)	Feces / Feces (n=9)	Ukupno / Total n=36 (%)
<i>S. Enteritidis</i>	22	7	29 (80,5 %)
<i>S. Typhimurium</i>	4	2	6 (16,6 %)
<i>S. Senftenberg</i>	1	0	1 (2,8 %)
UKUPNO / TOTAL	27	9	36 (100 %)

Rezultati serotipizacije kod divljih životinja

U svrhu razumijevanja ekološke distribucije i potencijalnih rezervoara izvan peradarskog sektora, analizirano je 14 arhivskih izolata porijeklom iz divljih i drugih životinja s područja Bosne i Hercegovine. Identificirani su specifični serotipovi poput *S. Seremban* i *S. Reading*, dok su kod divljih patka izolati pripadali različitim serogrupama (B, C, D i E). Iako ovi izolati predstavljaju arhivsku zbirku

Veterinarskog fakulteta u Sarajevu i nisu prostorno vezani za lokacije trenutno uzorkovanih jata brojlera, njihova identifikacija ukazuje na kontinuiranu prisutnost širokog spektra serotipova u prirodnim rezervoarima. Ovi podaci služe kao kvalitativna osnova za komparaciju s izolatima iz komercijalnog uzgoja, ukazujući na značajnu raznolikost salmonele u okolišu (Tablica 4).

Tablica 4. Rezultati serotipizacije izolata *Salmonella* spp. kod divljih životinja i drugih vrsta
Table 4 Results of *Salmonella* spp. serotyping in wildlife and other species

Vrsta životinje / Animal species	Broj izolata / Number of isolates	Serotip - Serogrupa / Serotype - Serogroup
Činčila / Chinchilla	1	Grupa D (<i>S. Seremban</i>)
Suri orao / Golden eagle	1	Grupa D (<i>S. Seremban</i>)
Golub / Pigeon	1	Grupa B (<i>S. Reading</i>)
Divlja patka / Wild duck	1	Grupa B
Činčila / Chinchilla	4	Grupa B
	2	Grupa C
	3	Grupa D
	1	Grupa E

Rasprava

Rezultati ovog istraživanja potvrđuju da su salmonele i dalje značajno prisutne u primarnoj proizvodnji brojlera u Bosni i Hercegovini. Utvrđena prevalencija od 1,98 % u 600 ispitivanih jata teške linije predstavlja objektivan uvid u trenutačno stanje, s obzirom na to da obuhvaćeni uzorak predstavlja značajan dio ukupno registriranih kapaciteta peradarske proizvodnje u oba entiteta (FBiH i RS). Zabilježena prevalencija od 1,98 % značajno je niža u usporedbi s istraživanjem Hadžiabdić i sur. (2015.), koji su utvrdili prisustvo salmonele u čak 10 % uzoraka. Ova razlika od preko 8 % može

se argumentirano pripisati punoj implementaciji državnih kontrolnih programa koji su u BiH postali obavezni nakon 2013. godine (Sl. glasnik BiH 96/13), što je rezultiralo strožim biosigurnosnim mjerama na farmama. Međutim, dok su Hadžiabdić i sur. (2015) bilježili veću raznolikost serotipova, u našem radu dominira *S. Enteritidis* (80,5 %). To ukazuje na to da se, iako ukupna prevalencija bilježi pad, ovaj javnozdravstveno najznačajniji serotip čvrsto etablirao u proizvodnom lancu, vjerojatno zbog perzistencije unutar objekata ili vertikalnog prijenosa, što predstavlja kontinuiran

rizik za sigurnost hrane. U usporedbi s najnovijim podacima EFSA i ECDC (2024.), gdje je prevalencija pet ciljanih serotipova u EU jatima iznosila približno 0,7 %, naši rezultati (1,98 %) i dalje pokazuju višu razinu kontaminacije. Ovakvo odstupanje je logična posljedica razlika u strogoći provođenja biosigurnosnih protokola i razine automatizacije farmi. Ipak, trend smanjenja u odnosu na 2015. godinu u BiH pokazuje da se domaća proizvodnja polako približava europskim standardima. Dominacija serotipa *S. Enteritidis* (80,5 %) utvrđena u ovom istraživanju u direktnoj je korelaciji s javnozdravstvenim statusom u Bosni i Hercegovini, gdje se ovaj serotip kontinuirano identificira kao vodeći uzročnik alimentarnih toksinfekcija kod ljudi (Uzunović i sur., 2004.). Ovakvi nalazi potvrđuju da rezervoar infekcije u primarnoj proizvodnji brojlera predstavlja kritičnu točku u lancu prijenosa salmoneloze na stanovništvo, neovisno o entitetskoj distribuciji. Izvještaji o zoonozama Zavoda za javno zdravstvo FBiH (2023.) potvrđuju da su *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium* najčešće izolirani serotipovi iz humanih uzoraka, što ukazuje na perzistentan javnozdravstveni rizik koji potječe iz primarne peradarske proizvodnje u Bosni i Hercegovini. Ovakav trend, koji se razlikuje od situacije u susjednim zemljama gdje dominira *S. Infantis* (Peić i sur., 2025.), naglašava specifičnost domaćeg epidemiološkog lanca i potrebu za striktnim provođenjem biosigurnosnih mjera u svim regijama uzgoja.

Analiza rezultata prema vrsti uzorka potvrdila je da je testiranje navlaka za obuću (2,3 %) osjetljivije od analize fecesa (1,5 %). Ovo opravdava preporuke ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020 i smjernice EFSA-e (2021.) o korištenju navlaka kao reprezentativnijeg uzorka za procjenu kontaminacije cjelokupnog okoliša objekta. Čak i mali broj inficiranih jedinki može putem izlučevina kontaminirati stielju, što se lakše detektira navlakama koje obuhvaćaju značajno veću površinu u usporedbi s pojedinačnim uzorcima fecesa. Trenutni zakonodavni sistem u BiH ("Sl. glasnik BiH", br. 102/12 i 96/13) fokusiran je primarno na suzbijanje *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium*. Međutim, identifikacija serotipa *S. Senftenberg* u našem istraživanju, koji je često prisutan u EU (EFSA i ECDC, 2024.), ukazuje na potrebu za širim monitoringom. Iako *S. Senftenberg* nije na listi obaveznih pet serotipova prema europskoj legislativi, njegova prisutnost na farmama ukazuje na potencijalne propuste u higijenskim barijerama i biosigurnosnim protokolima. Poseban doprinos

ovog istraživanja je potvrda prisustva salmonela kod divljih životinja u Bosni i Hercegovini. Izolacija serotipa *S. Reading* kod goluba (*Columba livia*) te *S. Seremban* kod surog orla (*Aquila chrysaetos*) i činčile (*Chinchilla lanigera*) predstavlja znanstveni novitet za područje naše države. Iako su ovi izolati dio arhivske zbirke Veterinarskog fakulteta u Sarajevu, njihovo porijeklo s lokaliteta koji gravitiraju područjima intenzivnog uzgoja peradi ukazuje na značajnu ekološku povezanost i rizik od horizontalnog prijenosa. Nalaz serogrupa B, C, D i E kod divljih pataka (*Anas platyrhynchos*) podržava tezu Dragičevića (2018.) o divljim pticama kao značajnim rezervoarima i vektorima koji mogu indirektno kontaminirati farme peradi putem izmeta ili kontaminacije vodotokova. Osobito je značajna korelacija naših rezultata s najnovijim regionalnim istraživanjima. Dok je u našem radu izoliran serotip *S. Reading* kod goluba, Ječmenica i sur. (2024.) u studiji provedenoj na galebovima u Zagrebu također navode ovaj serotip kao rijedak i specifičan nalaz. Ovakva podudarnost sugerira da *S. Reading* cirkulira u populacijama divljih ptica u široj regiji, što predstavlja izravnu prijetnju biosigurnosti farmi. Također, detekcija *S. Typhimurium* kod golubova u Bosni i Hercegovini potvrđuje nalaze Wigley (2024.) o divljim pticama kao rezervoarima koji, zbog svoje mobilnosti i prisustva u blizini skladišta hrane, predstavljaju stalnu točku proboja biosigurnosnih barijera. Ovi nalazi sugeriraju da monitoring salmonela u BiH ne smije biti ograničen isključivo na peradarske objekte, već treba obuhvatiti i divlje vrste koje dijele stanište s komercijalnim jatima. Visok postotak serotipova od javnozdravstvenoga značaja u našem istraživanju može se izravno povezati s uočenim varijacijama u provođenju biosigurnosnih mjera. Edukacija subjekata u poslovanju s hranom o važnosti dobre higijenske prakse i sprječavanju kontakta divljih ptica s hranom i opremom ključna je za zaštitu lanca prehrane „od farme do stola“.

Tijekom terenskoga rada na istraživanjima područjima, primijećeno je da određeni broj objekata starije gradnje ima nedostatke u fizičkim barijerama, što omogućava povremeni ulazak divljih ptica i glodavaca u prostore za uzgoj ili skladištenje hrane. Ovakvi propusti, u kombinaciji s neadekvatnim protokolima za dezinfekciju obuće i opreme, predstavljaju kritične točke za horizontalni prijenos salmonela s divljih rezervoara na komercijalna jata. S obzirom na to da su u radu identificirani specifi-

fični serotipovi kod divljih ptica (poput *S. Reading* i *S. Typhimurium*), proboj biosigurnosnih barijera na farmama postaje ključni faktor rizika. Stoga je edukacija subjekata u poslovanju s hranom o važnosti dobre higijenske prakse i strogoj kontroli pristupa objektima ključna za smanjenje prevalencije u primarnoj fazi.

Zaključci

Na osnovi provedenog istraživanja izolacije i serotipizacije salmonela iz brojerskih jata i divljih životinja, mogu se izvući sljedeći zaključci:

1. Kontinuirana prisutnost patogena: istraživanje je potvrdilo perzistenciju bakterija roda *Salmonella* na komercijalnim farmama brojlera u Bosni i Hercegovini tijekom primarne faze proizvodnje, s ukupnom zastupljenošću od 1,98 %.
2. Dominacija javnozdravstveno relevantnih serotipova: utvrđena je izrazita dominacija serotipa *S. Enteritidis* (80,5 %), a zatim i *S. Typhimurium* (16,6 %). S obzirom na to da su ovi serotipovi najčešći uzročnici humanih salmoneloza, rezultati ukazuju na direktan rizik za sigurnost lanca ishrane.
3. Uloga divljih životinja: iako kod divljih životinja nisu izolirani najučestaliji serotipovi iz peradarstva, utvrđena je pripadnost izolata istim serološkim grupama (B, C, D i E). Prvi su put u Bosni i Hercegovini kod činčile i surog orla dokazani serotip *S. Seremban*, te kod goluba serotip *S. Reading*, što ukazuje na značaj divljih vrsta kao rezervoara rjeđih serotipova.
4. Učestalost detekcije prema tipu uzorka: analiza rezultata ukazuje na to da su navlake za obuču pokazale veću učestalost detekcije salmonela u usporedbi s uzorcima fecesa. Ovakav nalaz podupire preporuke relevantnih standarda o korištenju navlaka kao reprezentativnijeg uzorka za nadzor kontaminacije objekata u rutinskom monitoringu.
5. Potreba za jačanjem nadzora: rezultati naglašavaju neophodnost kontinuiranog i strožeg provođenja programa monitoringa u BiH. Fokus nadzora treba proširiti izvan zakonski obaveznih pet serotipova, kako bi se stekao potpuniji uvid u epidemiološku situaciju i spriječio prijenos patogena od farme do trpeze.

Literatura

- [1] Antunes, P., J. Mourão, J. Campos, L. Peixe (2016): Salmonellosis: the role of poultry meat. *Clinical Microbiology and Infection*, 22(2), 110-121. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.10.010>
- [2] Barrow, P. A., M. A. Jones, N. Thomson (2010): Salmonella, u: Gyles, C.L., Prescott, J.F., Songer, J.G., Thoen, C.O. (ur.) *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*. Blackwell, str. 231-265.
- [3] Coburn, B., G. A. Grassl, B. B. Finlay (2007): Salmonella, the host and disease: a brief review. *Immunol. Cell Biol.* 85, 112-118.
- [4] Dragičević, V. (2018): Prevalenca Salmonella spp. u intestinalnom traktu divlje patke (*Anas platyrhynchos*). Magistarska teza. Veterinarski fakultet Univerziteta u Sarajevu.
- [5] EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control) (2024): The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. *EFSA Journal* 2023; 21(12):8442. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8442>
- [6] EFSA (European Food Safety Authority) (2021): Technical specifications for the harmonised monitoring and reporting of Salmonella in poultry and ruminants. *EFSA Journal*, 19(4), 6545.
- [7] Foley, S. L., T. J. Johnson, S. C. Ricke, R. Nayak, J. Danzeisen (2013): Salmonella pathogenicity and host adaptation in chicken-associated serovars. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 77, 582-607.
- [8] Gal-Mor, H., C. E. Boyle, A. Guntram (2014): Same species, different diseases: how and why typhoidal and non-typhoidal Salmonella enterica serovars differ. *Front. Microbiol.* 5, 391. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00391>
- [9] Hadžićević, S., E. Rešidbegović, D. Kušar, J. Mićunović, M. Očepček (2015): Distribution of Salmonella Enteritidis genotypes among selected broiler flocks in Bosnia and Herzegovina. *Slov. Vet. Res.* 52, 193-200.
- [10] Hafez, M. H. (2013): Salmonella Infections in Turkeys, u: Barrow, P.A., Methner, U. (ur.) *Salmonella in Domestic Animals*. CAB International, str. 193-220.
- [11] Hafez, M. H., S. Jodas (2000): Salmonella Infections in Turkey, u: Wray, C., Wray, A. (ur.) *Salmonella in Domestic Animals*. CAB International, str. 133-155.
- [12] Hrvatska agencija za hranu (2017): Godišnje izvješće o zoonozama u Hrvatskoj za 2015./2016. godinu.
- [13] International Organization for Standardization (2014): ISO/TR 6579-3:2014 Microbiology of the food chain — Part 3: Guidelines for serotyping of Salmonella spp.
- [14] International Organization for Standardization (2017): ISO 6579-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella — Part 1: Detection of Salmonella spp.

- [15] Jajere, S. M. (2019): A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors... Vet. World. 12, 504-521. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.504-521>
- [16] Jones, K. E., N. G. Patel, M. A. Levy, A. Storeygard, D. Balk, J. L. Gittleman, P. Daszak (2008): Global trends in emerging infectious diseases. Nature. 451, 990-993. <https://doi.org/10.1038/nature06536>
- [17] Ječmenica, B., A. Humski, L.T. Taylor, B. Šimpraga, F. Krstulović, T. Amšel Zelenika, J. Jurinović (2023). Diversity and prevalence of *Salmonella* spp. in gulls caught at a landfill, Zagreb, Croatia. Veterinarska stanica, 54 (5), 495-502. <https://doi.org/10.46419/vs.54.5.2>
- [18] Langridge, G. C., J. Wain, S. Nair (2012): Invasive Salmonellosis in Humans. EcoSal Plus. 5.
- [19] Majowicz, S. E., J. Musto, E. Scallan, F. J. Angulo, M. Kirk, S. J. O'Brien, T. F. Jones, A. Fazil, R. M. Hoekstra (2010): The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. Clin. Infect. Dis. 150, 882-889.
- [20] Moore, V. A. (1895): On a pathogenic bacillus of the hog-cholera group associated with a fatal disease in pigeons. USDA BAI Bulletin, 8, 71-76.
- [21] Nascimento, V. P. (1996): Salmoneloses paratíficas: uma revisão e situação atual. Simpósio Técnico de Produção de Ovos, São Paulo, str. 93.
- [22] OIE (2018): Salmonellosis. OIE Terr. Man., Chapter 3.9.8.
- [23] Pajić, M., N. Karabasil, D. Todorović i sur. (2015): Kontrola *Salmonella* u primarnoj proizvodnji brojlerskih pilića. Tehnol. mesa. 56, 103-108.
- [24] Peić, A., S. Marušić (2025): Is the Republic of Croatia following the trend in Salmonellosis in relation to the European union. Hrvat. čas. zdr. znan. 5, 81-88 <https://doi.org/10.48188/hczz.5.2.3>
- [25] Poppe, C. (2000): *Salmonella* Infections in the Domestic Fowl, u: Wray, C., Wray, A. (ur.) *Salmonella* in Domestic Animals. CAB Publishing, str. 107-125.
- [26] Shivaprasad, H. I., U. Methner, P. A. Barrow (2013): *Salmonella* Infections in the Domestic Fowl, u: Barrow, P.A., Methner, U. (ur.) *Salmonella* in Domestic Animals. CAB Publishing, str. 162-192.
- [27] Službeni glasnik BiH (2012): Pravilnik o ciljevima za smanjenje prisustva bakterija vrsta *Salmonella* Enteritidis i *Salmonella* Typhimurium kod brojlera, broj 102/12.
- [28] Službeni glasnik BiH (2013): Pravilnik o mjerama u slučaju otkrivanja relevantnih serotipova salmonela od interesa za javno zdravstvo kod peradi, broj 96/13.
- [29] Uzunovic-Kamberovic S. (2004): *Salmonella* Enteritidis in Bosnia and Herzegovina. Clinical Microbiology and Infection, 10, 1031-1033
- [30] Wigley, P. (2024): *Salmonella* and Salmonellosis in Wild Birds. Animals (Basel), 14(23), 3533. <https://doi.org/10.3390/ani14233533>
- [31] ZZJZ FBiH (2024): Godišnji izvještaj o zaraznim bolestima i provedenim imunizacijama u Federaciji Bosne i Hercegovine u 2023. godini. Zavod za javno zdravstvo FBiH broj 24. ISSN 2831-0888

Dostavljeno/Received: 07.03.2026.

Prihvaćeno/Accepted: 15.04.2026.

Epidemiology and serotype diversity of *Salmonella* spp. in poultry and wildlife: implications for public health in Bosnia and Herzegovina

Abstract

Salmonellosis remains one of the leading zoonotic challenges in modern broiler production due to its high potential for foodborne transmission and the long-term persistence of the pathogen on farms. The objective of this study was to isolate and identify *Salmonella* spp. serotypes from commercial broiler flocks in Bosnia and Herzegovina during the primary production phase and to investigate the presence of serotypes of public health significance. The study included a detailed analysis of 1,810 samples collected three weeks prior to the scheduled slaughter. Two complementary sample types were utilized: boot swabs ($n = 1,200$) and fecal samples ($n = 610$). Laboratory isolation and identification were performed according to the standardized ISO 6579-1:2017 method, while serotyping was conducted following the White-Kauffmann-Le Minor scheme. Out of the total number of samples, *Salmonella* spp. was isolated in 36 cases (1.98%). The results indicated that boot swabs (2.3%) showed a higher detection rate compared to fecal samples (1.5%). The most dominant serotype was *S. Enteritidis* (80.5%), followed by *S. Typhimurium* (16.6%) and *S. Senftenberg* (2.8%). Additionally, 14 isolates originating from wild animals (wild duck, pigeon, chinchilla, and golden eagle) were analyzed, revealing the presence of serotypes such as *S. Seremban* and *S. Reading*. The dominance of *S. Enteritidis* indicates a serious risk to public health, as this seroty-

pe is the most frequent cause of human foodborne infections. These findings emphasize the necessity of continuous monitoring and more stringent implementation of biosecurity measures on farms.

Keywords: *Salmonella* spp., serotyping, broilers, wild animals, public health, Bosnia and Herzegovina.

Epidemiologie und Serotypenvielfalt von *Salmonella* spp. bei Geflügel und Wildtieren: Auswirkungen auf die öffentliche Gesundheit in Bosnien und Herzegowina

Zusammenfassung

Die Salmonellose stellt aufgrund ihres hohen Potenzials für lebensmittelbedingte Infektionen und ihrer langfristigen Persistenz in landwirtschaftlichen Betrieben nach wie vor ein großes zoonotisches Problem in der modernen Masthähnchenproduktion dar. Ziel dieser Studie war es, *Salmonella* spp.-Serotypen aus kommerziellen Masthähnchenbeständen in Bosnien und Herzegowina während der Primärproduktionsphase zu isolieren und zu identifizieren sowie das Vorkommen von Serotypen zu untersuchen, die für die öffentliche Gesundheit relevant sind. Die Studie umfasste eine detaillierte Analyse von 1810 Proben, die drei Wochen vor der geplanten Schlachtung entnommen wurden. Es wurden zwei sich ergänzende Probenahmemethoden verwendet: Überschuhe ($n = 1200$) und Kotproben ($n = 610$). Die Isolierung und Identifizierung im Labor erfolgte streng nach der standardisierten horizontalen Methode ISO 6579-1:2017. Das Verfahren umfasste eine nicht-selektive Anreicherung in gepuffertem Peptonwasser bei 37 ± 1 °C, gefolgt von einer selektiven Anreicherung auf modifiziertem halbfestem Rappaport-Vassiliadis-Agar (MSRV) bei $41,5 \pm 1$ °C. Die Isolierung erfolgte auf selektiven XLD- und BG-Agar-Medien. Die endgültige Bestätigung der Isolate erfolgte mittels biochemischer Testreihen und des kommerziellen API-20E-Systems. Die Serotypisierung erfolgte durch Agglutination auf Objektträgern unter Verwendung spezifischer O- und H-Antiseren gemäß dem White-Kauffmann-Le-Minor-Schema. Von der Gesamtzahl der Proben wurden in 36 Fällen (1,98 %) *Salmonella* spp. isoliert. Die Ergebnisse zeigten, dass Abstriche von Überschuh eine sensitivere Methode darstellten (2,3 %) als Kotproben (1,5 %). Der vorherrschende Serotyp war *S. Enteritidis* (80,5 %), gefolgt von *S. Typhimurium* (16,6 %) und *S. Senftenberg* (2,8 %). Zusätzlich wurden 14 Isolate von Wildtieren (Wildente, Taube, Chinchilla und Steinadler) analysiert, wobei Serotypen wie *S. Seremban* und *S. Reading* nachgewiesen wurden. Die Dominanz von *S. Enteritidis* deutet auf ein ernstes Risiko für die öffentliche Gesundheit hin, da dieser Serotyp die häufigste Ursache für lebensmittelbedingte Infektionen beim Menschen ist. Die Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit einer kontinuierlichen Überwachung und einer strengeren Umsetzung von Biosicherheitsmaßnahmen in landwirtschaftlichen Betrieben.

Schlüsselwörter: *Salmonella* spp., Serotypisierung, Masthähnchen, Wildtiere, öffentliche Gesundheit, Bosnien und Herzegowina.

Epidemiología y diversidad de serotipos de *Salmonella* spp. en aves de corral y fauna silvestre: implicaciones para la salud pública en Bosnia y Herzegovina

Resumen

La salmonelosis sigue siendo una de las principales preocupaciones zoonóticas en la producción moderna de pollos de engorde debido a su elevado potencial de transmisión alimentaria y su persistencia a largo plazo en las explotaciones avícolas. El objetivo de este estudio fue aislar e identificar los serotipos de *Salmonella* spp. en lotes comerciales de pollos de engorde en Bosnia y Herzegovina durante la fase de producción primaria, así como investigar la presencia de serotipos de relevancia para la salud pública. El estudio incluyó un análisis detallado de 1810 muestras recogidas tres semanas antes del sacrificio programado en el matadero. Se emplearon dos métodos de muestreo complementarios: los cubrebotas (n

= 1200) y muestras fecales (n = 610). El aislamiento e identificación en laboratorio se realizaron estrictamente de acuerdo con el método horizontal estandarizado ISO 6579-1:2017. El procedimiento incluyó un preenriquecimiento no selectivo en agua de peptona tamponada a 37 ± 1 °C, seguido de enriquecimiento selectivo en agar semisólido modificado de Rappaport-Vassiliadis (MSRV) a $41,5 \pm 1$ °C. El aislamiento se llevó a cabo en medios selectivos XLD y agar BG. La confirmación final de los aislados se realizó mediante pruebas bioquímicas en serie y el sistema comercial API 20E. La serotipificación se efectuó mediante aglutinación en portaobjetos utilizando antisueros específicos O y H, conforme al esquema White-Kauffmann-Le Minor. De las muestras totales, *Salmonella* spp. fue aislada en 36 casos (1,98%). Los resultados indicaron que los cubrebotas fueron un método más sensible (2,3%) en comparación con las muestras fecales (1,5%). El serotipo predominante fue *S. Enteritidis* (80,5%), seguido de *S. Typhimurium* (16,6%) y *S. Senftenberg* (2,8%). Adicionalmente, se analizaron 14 aislados procedentes de fauna silvestre (pato silvestre, paloma, chinchilla y águila real), evidenciando la presencia de serotipos como *S. Seremban* y *S. Reading*. La dominancia de *S. Enteritidis* indica un riesgo significativo para la salud pública, ya que este serotipo representa la causa más frecuente de infecciones alimentarias en humanos. Los resultados enfatizan la necesidad de un monitoreo continuo y de una implementación más estricta de medidas de bioseguridad en las explotaciones avícolas.

Palabras claves: *Salmonella* spp., serotipificación, pollos de engorde, fauna silvestre, salud pública, Bosnia y Herzegovina.

Epidemiologia e diversità dei sierotipi di *Salmonella* spp. nel pollame e negli animali selvatici: implicazioni per la salute pubblica in Bosnia ed Erzegovina

Riassunto

La salmonellosi rimane una delle principali sfide zoonotiche nella moderna produzione di polli da carne, a causa dell'elevato potenziale di trasmissione attraverso gli alimenti e della prolungata persistenza del patogeno negli allevamenti. L'obiettivo di questo studio è stato isolare e identificare i sierotipi di *Salmonella* spp. nei gruppi commerciali di polli da carne nel territorio della Bosnia ed Erzegovina durante la fase primaria di produzione, nonché indagare la presenza di sierotipi di rilevanza per la salute pubblica. Lo studio ha compreso un'analisi dettagliata di 1810 campioni raccolti tre settimane prima della macellazione prevista. Sono stati utilizzati due metodi di campionamento complementari: copriscarpe (n = 1200) e campioni fecali (n = 610). L'isolamento e l'identificazione in laboratorio sono stati eseguiti interamente secondo il metodo orizzontale standardizzato ISO 6579-1:2017. La procedura ha previsto un pre-arricchimento non selettivo in acqua peptonata tamponata a 37 ± 1 °C, seguito da un arricchimento selettivo su agar semisolido modificado Rappaport-Vassiliadis (MSRV) a $41,5 \pm 1$ °C. L'isolamento è stato effettuato su terreni selettivi xilosio lisina desossicolato (XLD) e agar verde brillante (BG). La conferma finale degli isolati è stata eseguita mediante test biochimici e sistema commerciale API 20E. La sierotipizzazione è stata effettuata mediante agglutinazione su vetrino utilizzando antisieri specifici O e H secondo lo schema di *White-Kauffmann-Le Minor*. Su un totale di campioni, la *Salmonella* spp. è stata isolata in 36 casi (1,98%). I risultati hanno mostrato che il metodo dei copriscarpe è risultato più sensibile (2,3%) rispetto ai campioni fecali (1,5%). Il serotipo predominante è risultato *S. Enteritidis* (80,5%), seguito da *S. Typhimurium* (16,6%) e *S. Senftenberg* (2,8%). Inoltre, sono stati analizzati 14 isolati provenienti da animali selvatici (anatra selvatica, piccione, cincillà e aquila reale), evidenziando la presenza di sierotipi come *S. Seremban* e *S. Reading*. La predominanza di *S. Enteritidis* indica un serio rischio per la salute pubblica, poiché questo serotipo rappresenta la causa più comune di infezioni alimentari nell'uomo. I risultati sottolineano la necessità di un monitoraggio continuo e di un'applicazione più rigorosa delle misure di biosicurezza negli allevamenti.

Parole chiave: *Salmonella* spp., sierotipizzazione, polli da carne, animali selvatici, salute pubblica, Bosnia ed Erzegovina.