

# Bakterijski učinci respiratornih infekcija pasa

---

**Matić, Renata**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:731502>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-07**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET

Renata Matić

Bakterijski uzročnici respiratornih infekcija pasa

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2020.

*Ovaj rad izrađen je na Zavodu za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom, Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.*

Predstojnik:

Prof. dr. sc. Zoran Milas

Mentorice:

Izv. prof. dr. sc. Zrinka Štritof

Doc. dr. sc. Josipa Habuš

Članovi Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Izv. prof. dr. sc. Suzana Hađina
2. Doc. dr. sc. Josipa Habuš
3. Izv. prof. dr. sc. Zrinka Štritof
4. Prof. dr. sc. Vilim Starešina (zamjena)

## ZAHVALE:

*Ovom prilikom htjela bih se zahvaliti svojoj mentorici izv.prof.dr.sc. Zrinki Štritof na pruženoj mogućnosti za izradu ovog rada - od odabira teme, pomoći, savjeta do uloženog vremena.*

*Hvala Vam na stručnom vodstvu i razumijevanju.*

*Također, zahvalila bih čitavom Zavodu za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, koji su mi pomagali prilikom izrade diplomskog rada u laboratoriju, ali i tijekom razdoblja volontiranja. Velik dio znanja i praktičnog iskustva stekla sam upravo na Klinici za zarazne bolesti s mikrobiologijom, zbog čega sam neizmjerljivo zahvalna.*

*Vrijeme koje sam provela volontirajući obilježile su „Doturice“ s kojima je vrijedilo provesti svaku smjenu, dan, noć i vikend na Klinici. Hvala što ste učinile posljednje godine studiranja beskrajno motivirajućima!*

*Posebnu zahvalu upućujem svim prijateljima s kojima su godine studiranja proletile, a najveće hvala mojoj obitelji, koja mi je pružala beskonačnu podršku cijelog života. Bez Vas ne bih bila to što jesam.*

**POPIS KRATICA:**

**APC** - antigen prezentirajuće stanice (engl. antigen-presenting cells)

**BAL** – bronhoalveolarna lavaža (engl. bronchoalveolar lavage)

**CAV-2** – pseći adenovirus tipa 2 (engl. canine adenovirus type 2)

**CCoV** – pseći coronavirus (engl. canine coronavirus)

**CPIV** – pseći parainfluenza virus (engl. canine parainfluenza virus)

**CPV** – pseći pneumovirus (engl. canine pneumovirus)

**CRCoV** – pseći respiratorni coronavirus(engl. canine respiratory coronavirus)

**CRV** – pseći reovirus (engl. canine reovirus)

**FNA** – aspiracija tankom iglom (engl. fine needle aspiration)

**KN** – koagulaza negativan

**KP** – koagulaza pozitivan

**MALT** – limfno tkivo sluznica (engl. mucosa-associated lymphoid tissue)

**MDR** - multirezistentan (engl. multidrug-resistant)

**MRSP** – meticilin rezistentan *Staphylococcus pseudintermedius*

**PCR** – lančana reakcija polimerazom (engl. polymerase chain reaction)

## POPIS PRILOGA:

1. Grafikon 1. – Podjela dijagnostičkih materijala prema vrsti uzorka
2. Grafikon 2. – Rezultati bakteriološke pretrage
3. Grafikon 3. – Prikaz broja izolata izdvojenih u čistoj i mješovitoj bakterijskoj kulturi
4. Grafikon 4. – Antimikrobna osjetljivost bakterije *B.bronchiseptica*
5. Grafikon 5.– Antimikrobna osjetljivost bakterije *S.pseudintermedius*
6. Grafikon 6. – Antimikrobna osjetljivost bakterije *E.coli*
7. Grafikon 7. – Antimikrobna osjetljivost bakterije KN *Staphylococcus* sp.

## SADRŽAJ:

|   |          |
|---|----------|
| <b>1.UVOD.....</b>  | <b>1</b> |
| <b>2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA.....</b>                 | <b>2</b> |
| 2.1. GRAĐA DIŠNOG SUSTAVA.....  | 2        |
| 2.2. ZAŠTITNI MEHANIZMI ORGANIZMA.....                                    | 2        |
| 2.2.1. Imunološki odgovor.....  | 3        |
| 2.2.1.1. Urođeni imunološki odgovor.....                                  | 3        |
| 2.2.1.2. Stečeni imunološki odgovor.....                                  | 3        |
| 2.3. ZARAZNE BOLESTI DIŠNOG SUSTAVA.....                                  | 4        |
| 2.3.1. Rinitis.....   | 5        |
| 2.3.2. Traheobronhitis.....   | 5        |
| 2.3.3. Upala pluća.....   | 6        |
| 2.4.PREDISPONIRAJUĆI ČIMBENICI ZA NASTANAK BAKTERIJSKIH<br>INFEKCIJA..... | 7        |
| 2.4.1. Uvjeti držanja.....  | 7        |
| 2.4.2. Dobna predispozicija.....  | 8        |
| 2.4.2.1. Mladi psi.....   | 8        |
| 2.4.2.2. Stariji psi.....   | 8        |
| 2.4.3. Pasminska predispozicija.....                                      | 9        |
| 2.4.3.1. Brahicefalične pasmine.....                                      | 9        |
| 2.4.3.2. Irski vučji hrt.....   | 9        |

|   |    |
|---|----|
| 2.5. ETIOLOGIJA.....  | 10 |
| 2.5.1. Oportunističke infekcije.....                                    | 10 |
| 2.5.2. Bakterijski uzročnici.....                                       | 11 |
| 2.5.2.1. <i>Bordetella bronchiseptica</i> .....                         | 11 |
| 2.5.2.2. <i>Streptococcus</i> spp.....                                  | 12 |
| 2.5.2.3. <i>Mycoplasma cynos</i> .....                                  | 13 |
| 2.5.2.4. <i>Staphylococcus</i> spp.....                                 | 14 |
| 2.5.2.5. <i>Enterobacteriaceae</i> .....                                | 15 |
| 2.5.3. Virusni uzročnici.....   | 18 |
| 2.5.4. Gljivični uzročnici.....   | 21 |
| 2.5.5. Paraziti.....  | 22 |
| 2.6.PATOGENEZA I KLINIČKA SLIKA ZARAZNIH BOLESTI DIŠNOG<br>SUSTAVA..... | 24 |
| 2.6.1. Gornji dišni prohodi.....  | 24 |
| 2.6.2. Donji dišni prohodi.....   | 25 |
| 2.7. DIJAGNOSTIKA ZARAZNIH BOLESTI DIŠNOG SUSTAVA.....                  | 27 |
| 2.7.1. Bakteriološka pretraga.....                                      | 28 |
| 2.7.1.1. Uzimanje uzoraka.....  | 28 |
| 2.7.1.2. Vrste uzoraka.....   | 28 |
| 2.7.1.3. Interpretacija nalaza.....                                     | 28 |
| 2.7.2. Citološka pretraga.....  | 29 |
| 2.7.3. Histopatološka pretraga.....                                     | 29 |
| 2.7.4. Radiografija.....  | 30 |



|  |           |
|--|-----------|
| 2.7.5. Molekularne metode.....                           | 30        |
| 2.7.6. Ostale metode dijagnostike.....                   | 31        |
| 2.8. LIJEČENJE.....                                      | 31        |
| 2.8.1. Antimikrobna terapija.....                        | 31        |
| 2.8.2. Liječenje specifičnih bolesti dišnog sustava..... | 32        |
| <b>3. MATERIJALI I METODE.....</b>                       | <b>33</b> |
| <b>4. REZULTATI.....</b>                                 | <b>34</b> |
| <b>5.RASPRAVA.....</b>                                   | <b>42</b> |
| <b>6. ZAKLJUČCI.....</b>                                 | <b>48</b> |
| <b>7. LITERATURA.....</b>                                | <b>49</b> |
| <b>8. SAŽETAK.....</b>                                   | <b>64</b> |
| <b>9. SUMMARY.....</b>                                   | <b>65</b> |
| <b>10. ŽIVOTOPIS.....</b>                                | <b>66</b> |

## 1. UVOD

Tijekom posljednjih desetljeća, postalo je jasno da većina mikroorganizama povezanih s respiratornim infekcijama predstavlja uobičajene pripadnike dišnog ekosustava koji izazivaju asimptomatsku kolonizaciju i pronalaze svoju primarnu ekološku nišu unutar respiratornog trakta zdravih jedinki (HAKANSSON i sur., 2018.). Patogeno djelovanje bakterija predstavlja složen proces, pod istovremenim međusobnim djelovanjem domaćina, okoliša i mikroorganizama koji zajednički određuju razvoj i ozbiljnost bolesti (KOPPEN i sur., 2015.). Patogeni poput bakterija, mikoplazmi i virusa zajedno s toksičnim plinovima i stranim česticama mogu dospjeti u dišni sustav putem udahnutog zraka, što je u domaćih životinja najčešći put prijenosa većine respiratornih infekcija. Osim aerogenog, moguć je ulazak patogena hematogenim i izravnim putem (ZACHARY i MCGAVIN, 2018.). Prodor patogenih organizama spriječen je fizičkim, kemijskim i imunološkim mehanizmima koji uključuju sluznice respiratornog sustava, mukocilijarni aparat, brojne urođene antimikrobne faktore, alveolarne makrofage i imunosni odgovor pluća (VIESON i sur., 2012.). Nedostatak trajnog stabilnog stanja između domaćina, okoliša i mikrobioma može voditi do akutne ili kronične upalne reakcije, disbioze sluznica, te posljedično do prilike za razvoj zarazne bolesti (HAKANSSON i sur., 2018.). U kućnih ljubimaca bolesti dišnog sustava su česte. Iako su od malog ekonomskog značaja, bitne su za zdravlje životinja i prema tome značajne kliničarima i vlasnicima životinja (ZACHARY i MCGAVIN, 2018.). Posljednjeg desetljeća raste zanimanje za respiratorne patogene pasa, potaknut ili vidljivom neučinkovitošću cjepiva u kontroli izbivanja respiratornih bolesti (s naglaskom na velike populacije pasa u azilima i emergentne uzročnike) ili ponovnom pojavljivanju patogena koji uzrokuju izraženije kliničke simptome ili čak uginuće (PRIESTNALL i sur., 2014.).

Cilj ovog diplomskog rada bio je retrospektivno prikupiti i analizirati podatke Laboratorija za dijagnostiku bakterijskih bolesti konja Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom Veterinarskog fakulteta u razdoblju od 2015. do 2019. godine i istražiti u koliko su slučajeva zaprimljenih pasa sa kliničkim znakovima respiratornog sustava izdvojeni bakterijski uzročnici, iz koje vrste uzoraka su bakterije najčešće izdvojene u čistoj kulturi, te koje su vrste bakterija izdvojene. Također, obrađena je i osjetljivost izdvojenih bakterija na antimikrobne tvari.

## 2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

### 2.1. GRAĐA DIŠNOG SUSTAVA

Dišni sustav, osim glavne funkcije – izmjene plinova, ima i niz drugih funkcija. Područje nosa prekriveno specijaliziranim njušnim epitelom služi za osjet njuha koji može poslužiti kod orijentacije i u zaštiti od štetnih tvari (KOENIG i LIEBICH, 2009.). Dišni prohodi moraju filtrirati, zagrijati i ovlažiti udahnuti zrak, te u isto vrijeme spriječiti prodor štetnih infektivnih uzročnika (HAKANSSON i sur., 2018.). Respiratorni sustav kao cjelina pomaže pri izmjeni vode i topline, što je osobito važno u psa (KOENIG i LIEBICH, 2009.).

Dišni sustav čine dišni putovi kroz koje prolazi zrak i dio u kojem se vrši izmjena plinova, a čine ga gornji i donji dišni prohodi sa pleuralnom šupljinom. Gornji dišni sustav sastoji se od nosnih prohoda, nazofarinksa, ždrijela, grkljana i ekstratorakalnog dijela traheje. Donji dišni prohodi sastoje se od intratorakalnog dijela traheje, bronha i plućnog parenhima (LEE FOWLER i REINERO, 2012.). Za lakše razumijevanje građe i funkcije, prikladno je dišni sustav proizvoljno podijeliti na na provodni, prijelazni i respiratorni dio. Provodni dio dišnog sustava uključuje nosnu šupljinu, paranazalne sinuse, ždrijelo, grkljan, dušnik te ekstrapulmonalne i intrapulmonalne bronhe, koji su najvećim dijelom obloženi pseudovišeslojnim, cilindričnim stanicama s trepetiljkama između kojih se nalazi različit omjer sekretornih i seroznih stanica. Prijelazni dio sastoji se od bronhiola, koji služe kao prijelazna zona između provodnog (trepetljivog) i respiratornog (alveolarnog) dijela (ZACHARY i MCGAVIN, 2018.). Osnovna respiratorna jedinica pluća su alveole čija stijenka predstavlja krvno-zračnu barijeru. S unutrašnje strane obložene su dvama tipovima stanica – pneumocitima tipa 1 (membranozni pneumociti) i pneumocitima tipa 2 (zrnati pneumociti) (KOZARIĆ, 1997.). Sva tri funkcionalna dijela dišnog sustava – provodni, prijelazni i respiratorni – osjetljiva su na oštećenje zbog trajne izloženosti brojnim mikrobima, česticama i toksičnim plinovima prisutnim u zraku (ZACHARY i MCGAVIN, 2018.).

### 2.2. ZAŠTITNI MEHANIZMI ORGANIZMA

Zaštita od mikroorganizama se u velikoj mjeri pripisuje složenom kompleksu fizikalnih i mehaničkih principa, koji izbacuju patogene bez potrebe za uključivanjem upalnog ili imunološkog odgovora organizma. Ikakav značajan prodor navedenih mehanizama može voditi do razvoja infekcije (COHN i REINERO, 2007.). Fizikalna obrana dišnog sustava uključuje anatomske barijere kroz koje zrak prolazi prije dolaska u pluća, zaštitne reflekse –

koji uključuju kihanje i kašljanje, epitelnu barijeru i mehanizam mukocilijarnog čišćenja. Gornji dišni sustav uklanja većinu udahnutih čestica prije nego one uspiju doći do pluća (CHILVERS i O'CALLAGHAN, 2000.; HOLT, 2000.). Mukocilijarni aparat dišnog sustava potiče rutinsko uklanjanje čestica, uključujući i mikroorganizme (CHILVERS i O'CALLAGHAN, 2000.; RANDELL i BOUCHER, 2006.), dok zatvaranje glotisa štiti dišni sustav od aspiracije tijekom gutanja (COHN i REINERO, 2007.).

### 2.2.1. Imunološki odgovor organizma

#### 2.2.1.1. Urođeni imunološki odgovor

Kada fizikalne barijere ne uspiju izbaciti strane čestice ili mikrobe iz dišnog sustava, urođeni imunološki odgovor služi kao iduća crta obrane. Urođeni mehanizmi ne zahtijevaju prethodni susret s patogenom kako bi bili učinkoviti, ali u isto vrijeme ne osiguravaju zaštitu pri budućem kontaktu s istim patogenom. Širok raspon antimikrobnih tvari podrijetlom iz epitela čini bitan dio urođenog obrambenog mehanizma respiratornog sustava (ZAAS i SCHWARTZ, 2005.). Urođeni obrambeni mehanizam odgovoran je za trenutačan odgovor na prvobitan susret s patogenom (COHN i REINERO, 2007.), nije specifičan, a uključuje tvari izlučene iz respiratornog epitela koje pojačavaju upalnu kaskadu, fagocite i aktivaciju prirodnih stanica-ubojica (ZAAS i SCHWARTZ, 2005.; WILMOT i sur., 2000.). Glavne fagocitne stanice urođenog odgovora su neutrofil i makrofagi, koji prijanjaju, probavljaju i uništavaju potencijalne patogene. Ostaci se izbacuju uz pomoć mukocilijarnog aparata izvan dišnog sustava i organizma (TIZARD, 2004.). Navedene stranice postaju od iznimne važnosti u trenutku kada bakterije uspiju izbjeći fizikalne barijere i počnu se množiti unutar tkiva domaćina. Neki od patogena uspjeli su razviti napredne mehanizme kojima izbjegavaju ili savladavaju urođeni imunitet organizma kojeg napadaju. Prema tome, još jedna bitna uloga urođenog imunološkog odgovora jest da potiče aktivnost stečenog imunološkog odgovora i antigen-specifične limfocite, istovremeno stvarajući citokine i ostale medijatore upalnog odgovora (COHN i REINERO, 2007.).

#### 2.2.1.2. Stečeni imunološki odgovor

Niske koncentracije udahnutih patogena koji uspiju izbjeći fizikalne i urođene obrambene mehanizme, susreću se sa stečenim imunološkim odgovorom. On zahtijeva vremenski razdoblje od nekoliko dana za sazrijevanje, diferencijaciju i klonalno širenje efektivnih

T-limfocita i plazma stanica tj. B-limfocita koji izlučuju protutijela. Navedeni proces je visoko specifičan za svaki patogen i rezultira imunološkom memorijom – sposobnošću učinkovitije obrane domaćina u idućim susretima s istim patogenom (TIZARD, 2004.). Stečeni mehanizmi obrane obuhvaćaju staničnu i humoralnu imunost, u kojima se koriste CD4+ T-pomoćnički limfociti, tip stanice koji ne uspijeva samostalno prepoznati antigen, već mora biti predstavljen pomoću antigen-prezentirajućih stanica (APC stanice). Iako makrofazi često funkcioniraju kao APC stanice u drugim tkivima, dendritičke stanice prezentiraju antigen u plućima (HOLT, 2000.; VON GARNIER i sur., 2005.). Presentacija antigena je ključna sastavnica stečenog imunološkog odgovora, koji odgovara intracelularnim patogenima poput virusa, dok je humoralna imunost bitna je u sprječavanju infekcije ili uklanjanju postojeće (COHN i REINERO, 2007.). Limfno tkivo sluznica (MALT) specifičan je sustav limfoidnog tkiva rasprostranjenog po čitavoj površini tijela, čija imena se mijenjaju ovisno o lokalizaciji. MALT je iznimno važan u poticanju stečenog imuniteta, kojima antigene razvrstava i obrađuje na takav način da potiče i staničan i humoralan odgovor. U dišnom sustavu razlikuju se nosno (NALT) i bronhalno (BALT) limfno tkivo. Navedena tkiva su odgovorna za imunološko isključivanje (neupalna zaštita površina dišnog sustava), eliminaciju (izazvan odgovor na patogene koji nisu odbijeni imunološkim isključivanjem) i regulaciju (određivanje koje antigene treba napasti, a koje tolerirati) (XU i sur., 2003.). Poticanje tolerancije iznimno je bitno na površinama sluznica koje su u svakodnevnom kontaktu s okolinom, uzimajući u obzir da, kada ona ne bi postojala, čak i najdobroćudnije čestice imale bi mogućnost poticanja imunološke reakcije organizma (COHN i REINERO, 2007.).

### 2.3. ZARAZNE BOLESTI DIŠNOG SUSTAVA

Prekid zaštitnih mehanizama životinje može biti uzrokovan virusima, bakterijama, gljivicama, iritirajućim plinovima, promjenama u okolini, imunosupresijom, lokalnom traumom, stresom ili dugotrajnom antimikrobnom terapijom. Fiziološki prisutne bakterije štite domaćina preko procesa nazvanog „*kompetitivno isključivanje*“, u kojemu se potencijalni patogeni održavaju na bezopasnoj razini (LOPES i MARTINSON, 2017.). Neki patogeni razvili su mehanizme virulentnosti koji im omogućavaju prekid obrambenih mehanizama domaćina i izbjegavanje imunološkog odgovora. Bez obzira prodire li mikroorganizam u gornje ili donje dišne puteve, odgovor domaćina ovisit će o patogenom mehanizmu djelovanja uzročnika, imunološkom statusu domaćina i ozbiljnosti infekcije (VIESON i sur., 2012.).

### 2.3.1. Rinitis

Termin „*rinitis*“ opisuje stanje aktivne upalne reakcije u nosnim prohodima koja uzrokuje kihanje, nosni iscjedak i neugodu u području nosa (CORCORAN, 2015.), a podrazumijeva etiološki primarno upalnu bolest (COOKE, 2005.). Primarni bakterijski rinitis pojavljuje se rijetko (VAN PELT i MCKIERNAN, 1994.) – tek 1 od 80 pasa ima dijagnozu primarnog rinosinusitisa (LEE FOWLER i REINERO, 2012.). Upalni procesi nosne šupljine u pravilu nisu opasni po život i rješavaju se u potpunosti (LOPES i MARTINSON, 2017.). „*Nespecifični rinitis*“ uključuje sve slučajeve primarne upalne nosne bolesti (MELER i sur., 2008.), koji prevladava po učestalosti u pasa. U tim slučajevima bakterije pridonose kao sekundarni patogeni (CORCORAN, 2015.), a pronađen je u 25% slučajeva kroničnih nosih bolesti (MELER i sur., 2008.).

Primarni infektivni uzročnici rinitisa mogu biti virusni, rikecijski, bakterijski (*Bordetella bronchiseptica*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. i *Mycoplasma* spp.) i gljivični (*Aspergillus fumigatus*) (CORCORAN, 2015.). Rinitis može biti toliko prodoran da dopire do koštanih struktura u nosu (MATHEWS i SHARP, 2006.), sa njihovim naknadnim uništenjem uzrokovanim kombinacijom imunosnog odgovora domaćina i dermonekrolitičkim toksinima gljivica. Brojni virusni uzročnici proučavani in vitro mogu doprinijeti razvoju bolesti onemogućavanjem djelovanja urođenih obrambenih mehanizmima domaćina (PEETERS i CLERCX, 2007.). Kronični rinitis može biti definiran kao dugotrajna upalna bolest nosne šupljine koja ne odgovara na terapiju temeljenu na kliničkim simptomima. Kronična nosna bolest može se razviti iz gljivičnih infekcija, neoplazija, stranog tijela ili bolesti usne šupljine (COOKE, 2005.; TASKER i sur., 1999.). Također, može se proširiti do područja sinusa, uzrokujući upalu sinusa; do kostiju lica uzrokujući osteomijelitis; do Eustahijeve tube uzrokujući upalnu srednjeg uha, te naposljetku, upalu moždanih ovojnica (LOPES i MARTINSON, 2017.).

### 2.3.2. Traheobronhitis

Infekcija dišnog sustava u pasa koja tipično zahvaća gornje dišne prohode naziva se „*bolest gornjih dišnih prohoda*“, a obuhvaća infektivni laringotraheitis, traheobronhitis i kompleks infektivnih respiratornih bolesti (VIESON i sur., 2012.). Zarazni traheobronhitis ili „*zarazni kašalj pasa*“ termin je kojim se opisuje akutna, veoma zarazna bolest dišnog sustava u pasa koja utječe na ždrijelo, dušnik, bronhe, te povremeno na sluznicu nosa i donje dišne prohode (APPEL i BINN, 1987.). Predstavlja sindrom u koji su uključeni virusni i bakterijski

uzročnici koji zajednički inficiraju imunokompromitirane, prethodno cijepljene pse ili one koji su prvi puta došli u dodir s patogenom. Navedeno oboljenje je multifaktorijalno i izgledno je da bitnu ulogu u razvoju i tijeku bolesti imaju i domaćin i okolišni čimbenici (PESAVENTO i sur., 2008.).

Najčešći etiološki uzročnici su pseći parainfluenca virus (CPIV), adenovirus-2 (CAV-2) i bakterija *Bordetella bronchiseptica*. Sekundarnim uzročnicima pripadaju pseći herpesvirus (CHV) i reovirus (CRV), te bakterijske vrste *Streptococcus* spp., *Pasteurella* spp., *Pseudomonas* spp., kao i koliformne bakterije. Nedavna istraživanja predložila su uključivanje neuobičajenih uzročnika poput bakterije *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, (PRIESTNALL i ERLES, 2011.; CHALKER i sur., 2003.) i bakterije *Mycoplasma cynos* (CHVALA i sur., 2007.; MANNERING i sur., 2009.). U istraživanju populacije asimptomatskih pasa, njih 47.7% bili su pozitivni na barem jedan od ukupno 9 patogena uključenih u etiologiju zaraznog traheobronhitisa (LAVAN i KNESL, 2015.). Nekoliko multivalentnih cjepiva štiti od virusnih patogena (PRIESTNALL i sur., 2014.), no izbijanja bolesti dišnog sustava u pasa prisutna su diljem svijeta (FORD, 2012.), iako se cjepiva koriste rutinski. Iz navedenog se može zaključiti važnost drugih patogena i čimbenika u razvoju zaraznog traheobronhitisa pasa (PRIESTNALL i sur., 2014.). Široko rasprostranjena prevalencija, multikauzala etiologija i povremena, ali trajna pojava zaraznog traheobronhitisa u cijepljenih pasa svakako predstavlja izazov kliničarima (LAVAN i KNESL, 2015.).

### 2.3.3. Upala pluća

Bakterijske, virusne, gljivične ili protozoalne dišne infekcije povremeno se pojavljuju iako dišni sustav posjeduje brojne zaštitne mehanizme. Moguće su i pneumonije uzrokovane parazitima, iako u manjem broju slučajeva (VIESON i sur., 2012.). Bakterijska pneumonija je stečena upala donjih dišnih prohoda i parenhima pluća, koja se nastavlja na postojeću bakterijsku infekciju (BRADY, 2004.). Mnogi virusni i gljivični uzročnici pneumonija su primarni patogeni stečeni inhalacijom (MASON i NELSON, 1992.) koji posjeduju virulentne faktore uz pomoć kojih uzrokuju bolest u inače zdravih jedinki. Suprotno tomu, patogeni odgovorni za bakterijsku pneumoniju najčešće su oportunistički patogeni (GREENE i REINERO, 2006.). Bakterijske pneumonije ostaju jedna od najčešćih kliničkih dijagnoza u pasa sa akutnim ili kroničnim respiratornim bolestima. Nova istraživanja pokazuju složenu poveznicu između virusnih respiratornih bolesti i razvoja bakterijskih pneumonija u pasa.

Infektivne pneumonije u pasa često započinju virusnom kolonizacijom i upalnom reakcijom gornjih dišnih puteva (DEAR, 2014.), no točna uloga virusa u razvoju bakterijske pneumonije još uvijek nije u potpunosti procijenjena (VIITANEN i sur., 2015.). Pri pojavi bakterijske pneumonije, bitno je pronaći temeljne faktore koji su predisponirali životinju infekciji. Jedan od rijetkih primarnih bakterijskih respiratornih patogena u pasa - bakterija *Bordetella bronchiseptica*, sposobna inficirati dišne prohode zdravih domaćina stvarajući toksin koji uzrokuje stečenu sekundarnu cilijarnu diskineziju (ANDERTON i sur., 2004.).

## 2.4. PREDISPONIRAJUĆI ČIMBENICI ZA NASTANAK BAKTERIJSKIH INFEKCIJA

### 2.4.1. Uvjeti držanja

Sklonište za životinje mjesto je za životinje (najčešće pse) bez vlasnika koje čekaju udomljenje, a prepoznata su kao značajan rizični faktor za respiratorne bolesti u pasa (ZACHARY i MCGAVIN, 2018.). Skloništa su karakterizirana nasumičnim izvorom populacije pasa s nepoznatom povijesti cijepljenja, visokim protokom jedinki i visokim rizikom od razvitka zaraznih bolesti (DAY i sur., 2016.). Dokazano je da zarazne respiratorne bolesti imaju različit epidemiološki uzorak u skloništima za životinje, u usporedbi sa psima u kućanstvu (WELBORN i sur., 2011.). Cjepiva i strategije za postupanje sa zaraznim životinjama smanjile su pojavu respiratornih bolesti u pasa u kućnom držanju, no dišne infekcije su još uvijek bitan problem u populacijama pasa s visokom gustoćom naseljenosti, kao i u područjima gdje se redovno ne primjenjuje cijepljenje pasa. Takve situacije omogućavaju održavanje, širenje i potencijalno izbijanje bolesti na druge populacije pasa. Još uvijek su prisutna mnoga neodgovorena pitanja vezana uz patogenezu, imunopatologiju i karakteristike infektivnih uzročnika, koja bi u budućnosti mogla podariti informacije bitne za razvoj specifičnih terapija, dijagnostike i prevencije respiratornih bolesti (VIESON i sur., 2012.).

Klinički znakovi zarasnog traheobronhitisa uobičajeno su samoograničavajući, no pri pojavi predisponirajućih uvjeta, kliničko očitovanje može varirati od ozbiljnog do fatalnog (FORD, 2012.). Loši uvjeti držanja su često povezani sa lošom higijenom i okolišnim čimbenicima, a odražavaju se pojačanim stresom u životinja koji posljedično povećava incidenciju i ozbiljnost oboljenja (ZACHARY i MCGAVIN, 2018.). U pasa koji su gusto smješteni na malom prostoru (poput skloništa, azila i uzgajivačnica) patogeni se prenose kašljanjem, kihanjem ili direktnim kontaktom (FORD, 2012.). Pojavljuje se visoka koncentracija patogena u gusto nastanjenom prostoru sa neodgovarajućim higijenskim uvjetima, koja ubrzo doseže



visoke stope morbiditeta (MITCHELL i sur., 2018.). Izobrazba osoblja koje radi u skloništima također ima bitnu ulogu u širenju zaraznih respiratornih bolesti (WELBORN, 2011.). Pojavnost bolesti i njena ozbiljnost značajno su smanjeni u pasa koji su cijepljeni protiv zaraznog traheobronhitisa, s tim da je velik dio pasa (65.7%) unatoč cijepljenju pokazivao kliničke znakove respiratornog oboljenja (MITCHELL i sur., 2018.).

#### 2.4.2. Dobna predispozicija

##### 2.4.2.1. Mladi psi

Visok postotak mladih životinja može biti imunokompromitiran zbog manjka ili nepostojanja pasivnog imuniteta. Ustanove za prihvata životinja imaju iznimno brz protok životinja i visok postotak mladih jedinki, koje mogu imati narušen imunski sustav (DAY i sur., 2010.). Općenito, mladi psi su izgledniji za razvoj ozbiljnijih kliničkih znakova, kao i oni koji imaju veći broj prisutnih koinfekcija (VIESON i sur., 2012.). Zarazni traheobronhitis posebice je prisutan u naivih pasa, prvi puta izloženim patogenu u napučenim prostorima koji su istovremeno pod utjecajem stresa, poput skloništa za životinje ili uzgajivačnica (DEAR, 2014.). Iako su uzročnici zaraznog traheobronhitisa prisutni u pasa svih dobnih skupina, štenci su češće inficirani bakterijom *Bordetella bronchiseptica* u usporedbi sa drugim dobnim skupinama (MABONI i sur., 2019.). Psi sa pneumonijom uzorkovanom bakterijom *B.bronchiseptica* bili su značajno mlađi od pasa s pneumonijom uzrokovanom drugim uzročnicima. Istraživanja upućuju da okolišno stečene zarazne pneumonije, pronađenih u pasa mlađih od jedne godine, imaju ozbiljniju kliničku sliku kod pasa s izoliranom bakterijom *B.bronchiseptica*, nego pneumonija uzorkovanih drugim bakterijama (RADHAKRISHNAN i sur., 2007.). Također, CAV-2 često je izoliran iz težih slučajeva zaraznog traheobronhitisa i pojavljuje se u necijepljenih pasa i štenaca koji nisu primili zaštitu maternalnih protutijela (LOBETTI, 2006.). Naglašava se važnost cijepljenja protiv virusa uzročnika zaraznog traheobronhitisa u mladoj dobi (MABONI i sur., 2019.).

##### 2.4.2.2. Stariji psi

Dišni sustav podvrgnut je raznolikim anatomskim, fiziološkim i imunološkim promjenama s prolaskom vremena. Mišićna snaga dišnog sustava progresivno se smanjuje, a ukočenost prsnog koša dovodi do povećanog rada tijekom disanja. Parenhim pluća gubi svoju potpunu strukturu, što uzrokuje proširenje zračnih prohoda i smanjenje elastičnosti pluća, čime se dodatno ugrožava ventilacija. Također, centri za disanje postaju manje osjetljivi čime se

smanjuje osjetljivost na refleks kašljanja. Najčešće bolesti dišnog sustava u starijih pasa su kolaps traheje, kronični bronhitis, bakterijska pneumonija i fibroza pluća (DE MORAIS, 2009b.). Paraliza larinksa česti je uzrok blagog, umjerenog ili ozbiljnog respiratornog distresa u starijih pasmina pasa koja uzrokuje izrazito ograničen protok zraka pri inspiriju (HOLT, 2004.). Neoplazije pluća karakteristične su za pse srednje do starije dobi, a rezultiraju kliničkim znakovima bolesti dišnog sustava poput kašlja, dispneje, nepodnošenja tjelesne aktivnosti i kaheksije (CORCORAN, 2015.).

### 2.4.3. Pasminska predispozicija

#### 2.4.3.1. Brahicefalične pasmine pasa

Brahicefalične pasmine pasa uzgajane su kako bi imale skraćenu duljinu njuške i lubanje. Takva koformacija je povezana s brojnim anatomskim abnormalnostima poput stenotičnih nosnica, produljenog mekog nepca, hipoplastičnog dušnika, abernatnih konha i turbinata, povećanih tonzila i makroglosije. Cjelovita anatomija dišnog sustava predisponira ih na povećan otpor udahnutom zraku (EMMERSON, 2014.), a pogotovo produljeno i zadebljano meko nepce koji uvelike pridonosi ograničenom protoku zraka (LORISON i sur., 1997.). Obrazac disanja u brahicefaličnom sindromu dokazuje učinak otpora zračnih prohoda koji se očituju paradoksalnim pokretima abdomena i prsnog koša. Opstrukcija dišnih puteva pasmina s brahicefaličnim sindromom se pogoršava s vremenom zbog stalne ozljede ždrijelnih mišića i posljedičnog edema i fibroze navedenih mišićnih skupina (PETROF i sur., 1996.; PETROF i sur., 1994.).

#### 2.4.3.2. Irski vučji hrt

Irski vučji hrt pasmina je predisponirana na nekoliko bolesti koje utječu na krvožilni, endokrini, imunološki, koštani, probavni i dišni sustav (GOUGH i THOMAS, 2010.). Najpoznatija bolest dišnog sustava u ove pasmine je sindrom rinitis/bronhopneumonija, u kojem je primarni patološki proces kronični rinitis, sa sekundarnim razvitkom bronhopneumonije. Češće se javlja u mlađih pasa, sa simptomima prisutnim po rođenju (CLERCX i sur., 2003.; WILKINSON, 1969.). Također, uočena je povećana pojavnost bakterijskih upala pluća u ove pasmine, te je često ponovno obolijevanje od bakterijske upale pluća nakon prebolijevanja. Etiologija je i dalje nepoznata (VIITANEN i sur., 2019.).

## 2.5. ETIOLOGIJA

### 2.5.1. Oportunističke infekcije

Dišni sustav ima svoju fiziološku bakterijsku floru, kao i drugi organski sustavi koji su u kontaktu s vanjskim okolišem (ZACHARY i MCGAVIN, 2018.). Mikroorganizmi mogu biti pronađeni gotovo svuda, a skupina mikroorganizama povezana s određenom lokacijom i cjelokupnim genetskim materijalom naziva se mikrobiom (BASTIAANSEN i sur., 2019.). Oportunistički patogeni opisani su u medicinskoj literaturi kao organizmi koji postaju patogeni nakon što su obrambeni mehanizmi domaćina oslabljeli zbog drugih faktora (poput stresa, ozljeda, bolesti, lijekova, prijašnje infekcije, imunodeficijencije, starosti i sl.). Disbioza kao stanje neravnoteže ili neprilagođenosti mikrobioma, povezano je s poremećajem homeostaze na sluznicama, koje dovodi do disbalansa između domaćina i mikrobioma, a posljedično do širenja infektivnih i upalnih bolesti (HAKANSSON i sur., 2018.).

Unatoč prirodnim barijerama, traheja, bronhi i pluća zdrave jedinke nisu kontinuirano sterilni. Dišni putevi do prvog grananja bronha kontaminirani su malim brojem mikroorganizama. Istraživanja u kojima su korišteni brisevi ili uzorci tkiva kaudalnog dijela traheje klinički zdravih pasa dokazala su neku vrstu bakterija u 40-50% uzoraka (LEE FOWLER i REINERO, 2012.). Eksperimentalnim istraživanjima ustanovljeno je da se mikroorganizmi nosne flore kontinuirano unose u pluća preko trahealnog zraka. Usprkos kontinuiranom bakterijskom bombardiranju podrijetlom iz nosne flore, te kontaminiranog zraka koji struji do pluća, ona ostaju sterilna zbog svojih izvanredno učinkovitih obrambenih mehanizama (ZACHARY i MCGAVIN, 2018.). Mikrobiom koji naseljava dišni sustav može biti povezan s usmjeravanjem imunskog sustava na razlikovanje komenzalnih i infektivnih signala, istovremeno spriječavajući pretjerani imunski odgovor protiv vanjskih uzročnika. Kako bi se uspostavila asimptomatska kolonizacija, novodolazeći organizam treba se prilagoditi na stanje mikrobijalne simbioze sa sluznicom domaćina i njegovim imunskim sustavom. Mehanizmi uključeni u uspostavljanje asimptomatske kolonizacije nisu u potpunosti razjašnjeni (HAKANSSON i sur., 2018.), ali moguće je da mikrobiom modulira kako bakterije i domaćin međusobno djeluju (HUANG i sur., 2015.). Većina bakterija koja uzrokuje infekcije dišnog sustava se nalazi u nosnoj šupljini, nazofarinksu i orofarinksu bez uzrokovanja kliničkih simptoma (SIEGEL i WEISER, 2015.). Virusni su bitni stanovnici gornjih prohoda koji često remete mikrofloru dišnog sustava, izazivajući prijelaz bakterija iz asimptomatskih u patogene agente, ali istovremeno mogu perzistirati u dišnom sustavu bez uzorkovanja kliničkih

simptoma (BOSCH i sur., 2013.). Određeni molekularni faktori i signali koji uzrokuju promjene u homeostazi domaćina i mikroba, rezultiraju promjenom iz komenzalne kolonizacije u infekciju dišnog sustava (HAKANSSON i sur., 2018.). Patogeni također mogu nastaviti biti prisutni u dišnom sustavu životinja u rekonvalescenciji. U stanju stresa bolest se može vratiti (ZACHARY i MCGAVIN, 2018.), a klinički zdravi psi mogu nositi respiratorne patogene koji mogu biti izvor infekcije za osjetljive pse (SCHULZ i sur., 2014.). Oportunisti se pojavljuju kao komenzalni simbioziti (poput bakterija *Streptococcus pneumoniae* i *Staphylococcus aureus*) ili okolišno stečeni mikroorganizmi (poput bakterija *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus* sp.) (BROWN i sur. 2012.; VIESON i sur., 2012.).

### 2.5.2. Bakterijski uzročnici

Brojne bakterije uzrokuju primarne ili sekundarne infekcije gornjih i donjih dišnih prohoda u pasa, koje se često susreću u veterinarskoj praksi (VIESON i sur., 2012.). Istraživanja bakterijske mikroflore nosnih šupljina, tonzila i ždrijela klinički zdravih pasa, uočila su mnogobrojne aerobne i fakultativno anaerobne bakterije, s tim da je veći broj bakterija rutinski nađen u rostralnom dijelu nosne šupljine nego u kaudalnom. Velik spektar potencijalno patogenih bakterija pronađenih u gornjim dišnim prohodima pasa potiče složenost, patogenezu i klinički ishod bolesti (LEE FOWLER i REINERO, 2012.). Također, mnoge izolirane bakterije povezane su sa zaraznim traheobronhitisom pasa, iako je posebna pažnja pridodana bakterijama *Bordetella bronchiseptica*, *S. equi* subsp. *zooeidemicus* i *Mycoplasma cynos* (DEAR, 2014.).

#### 2.5.2.1. *Bordetella bronchiseptica*

Rod *Bordetella* zajedno sa rodom *Alcaligenes* i rodom *Taylorella*, pripada porodici *Alcaligenaceae*. Bakterije ovoga roda gram-negativne su, štapićastog ili kokobacilarnog oblika. Strogi su aerobi, energiju dobivaju oksidacijom aminokiselina i ne koriste se ugljikohidratima. Tri vrste sposobne su uzrokovati bolest dišnog sustava – *B.bronchiseptica*, *B.pertussis* i *B.parapertussis*. Pojavnost svih navedenih vrsta prisutna je u ljudi, dok se samo bakterija *B.bronchiseptica* pojavljuje u širokom rasponu u sisavaca. Posljednjeg desetljeća proučava se složenost virulentnosti svojstven rodu *Bordetella* i način na koji mogu u isto vrijeme imati ulogu komenzalnih mikroorganizama gornjih dišnih prohoda i patogena (NAGLIĆ i sur., 2005.). Bakterija *Bordetella bronchiseptica* često se nalazi u prednjem dijelu dišnog sustava zdravih ili bolesnih domaćih sisavaca i ptica. Kao samostalni agens, može biti uzročnik kliničke respiratorne bolesti (MCCANDLISH i sur. 1978.; ELLIS i sur., 2001.) i

često je smatrana primarnim uzročnikom zaraznog traheobronhitisa u pasa (CANONNE i sur., 2016.). Značajno češći je nalaz bakterije *B.bronchiseptica* u pasa sa заразним traheobronhitisom nego u klinički zdravih pasa (SCHULZ i sur., 2014.). Dijagnostički je bitan pronalazak bakterije *B.bronchiseptica* u pasa s pneumonijom (TAHA-ABDELAZIZ i sur. 2016.) jer je dokazano da se kolonizacija bakterijom *B.bronchiseptica* smatra predisponirajućim faktorom pri pojavi bakterijske pneumonije, zahvaljujući svojoj sposobnosti inficiranja dišnih prohoda zdravih domaćina stvaranjem toksina koji uzrokuje stečenu sekundarnu cilijarnu diskineziju i oštećenje mukocilijarnog obrambenog mehanizma (ANDERTON i sur., 2004.). Infekcija se primarno širi aerogenim putem, a bakterija u prednjem dišnom sustavu prijanja uz trepetljikavi epitel uz pomoć adhezina. Tvori više bitnih tvari koje sudjeluju u patogenezi – trahealni citotoksin, hemolizin, enzime proteaze, hemaglutinine, adenilat-ciklazu kojom sprečava fagocitozu i unutarstanično ubijanje. Sprečavanjem pokretanja respiratornih trepetiljka i njihovim istovremenim oštećivanjem citotoksinom, *B.bronchiseptica* ometa izbacivanje mikroba uklopljenih u sluz, što slabi otpornost sluznice i pridonosi razvoju upale (NAGLIĆ i sur., 2005.).

#### 2.5.2.2. *Streptococcus* spp.

Streptokoki su gram-pozitivne, fakultativno anaerobne bakterije kokoidnog ili jajolikog oblika, koje domaćine pronalaze u životinjama i ljudima. Ne tvore spore i većinom su nepokretne, a pojedine patogene vrste imaju polisaharidnu kapsulu i fimbrije (NAGLIĆ i sur., 2005.). Iako su brojne vrste streptokoka patogene, mnoge su dio komenzalne mikroflore usne šupljine, nazofarinksa, kože, gastrointestinalnog i genitalnog sustava. Razlike unutar vrste su odgovorne za raznolik raspon domaćina i stupanj virulencije. Postoji nekoliko sistema klasifikacije streptokoka ovisno o osobitostima kulture, sastava antigena i biokemijskih osobina. „*Lancefield klasifikacija*“ se koristi za razlikovanje grupa na osnovi antigenih razlika u ugljikohidratima stanične stijenke. Učinak na eritrocite u mediju je također korišten za otkrivanje grupa streptokoka. Patogeniji sojevi imaju hemolitičan učinak na eritrocite, dok ga neki sojevi uopće ne posjeduju. Prema tipu hemolize, streptokoki se dijele u tri skupine – alfa-hemolitične, beta-hemolitične i nehemolitične streptokoke. Alfa-hemolitični streptokoki djelomično razgrađuju hemoglobin, dok beta-hemolitične streptokoke karakterizira cjelovito uništenje eritrocita i područja oko bakterijskih kolonija (GREENE, 2012.). Treću skupinu čine nehemolitični streptokoki, koji se još nazivaju gama-hemolitični streptokoki (NAGLIĆ i sur., 2005.).

Bakterije roda *Streptococcus* spp. ubrajaju se u oportunističke patogene gornjeg dišnog sustava. *S. equi* subsp. *zooepidemicus* bitan je patogen konja i svinja, no u posljednje vrijeme je povezan sa slučajevima akutne fatalne pneumonije u pasa (CHALKER i sur., 2003.; PRIESTNALL i sur., 2014.). Brojna istraživanja pokazuju izbijanje akutne, hemoragične pneumonije karakterizirane visokim morbiditetom (do 100%), te visokim mortalitetom (do 60%) (BYUN i sur., 2009.). Unatoč tomu, nekoliko čimbenika poput osjetljivosti domaćina, postojanja drugih infekcija istovremeno i triju superantigen gena predloženi su kao uzročnici naglog nastupa bolesti i brzog pogoršanja stanja mnogih pasa zaraženih navedenom bakterijom (PRIESTNALL i ERLES, 2011.). Bakterije ovoga roda pronađene su u 30% pasa koji su pokazivali kliničke simptome respiratorne bolesti (RHEINWALD i sur., 2014.).

#### 2.5.2.3. *Mycoplasma cynos*

Mikoplazme se opisuju kao najmanji poznati prokariotski mikrobi koji se mogu samostalno razmnožavati, a izvojeno je približno 160 vrsta. Većina patogenih vrsta za sisavce i ptice pripada rodovima *Mycoplasma* i *Ureaplasma*. Iako su veličinom i sposobnošću hemaglutinacije slične virusima, tvorbom filamenata nalik hifama donekle liče gljivicama i imaju vlastiti metabolizam, tako da se u širem smislu svrstavaju u bakterije. Nedostatak stanične stijenke smatra se njihovom bitnom osobinom jer predstavlja uzrok izraženoj pleomorfnosti, osjetljivosti prema osmotskom šoku i otpornosti prema penicilinu i drugim antibioticima koji sprečavaju tvorbu stanične stijenke. Gramovim postupkom se slabo boje, a većina su fakultativni anaerobi koji najbolje rastu u atmosferi s povećanom količinom ugljikovog dioksida (od 5 do 10%). Pojedine vrste imaju sposobnost hemaglutinacije i hemadsorpcije (GREENE, 2012.), dok neke paraliziraju respiratorne cilije (COHN i REINERO, 2007.).

Mikoplazme su dio fiziološke flore ždrijela u pasa i pronađene su u gornjim i donjim dijelovima dišnog sustava zdravih i asimptomatskih pasa (LAVAN i KNESL, 2015.). Izolirane su iz sekreta donjih dišnih prohoda pasa koji su pokazivali kliničke simptome respiratornog obolijevanja, ali nije poznato jesu li primarni patogeni ili oportunisti (JAMESON i sur., 1995.; KIRCHNER i sur., 1990., RANDOLPH i sur., 1993.). Često je izolirana iz donjih dišnih prohoda klinički zdravih pasa (GREENE, 2012.). Teško je dokazati je li *M. cynos* sposobna uzrokovati patološke promjene sama ili su one posljedica istovremenih infekcija drugim organizmima (PRIESTNALL i sur., 2014.). U jednom istraživanju prevalencija *Mycoplasma* sp. u traheobronhalnom ispirku mladih pasa povezana je sa

istovremenom infekcijom pluća bakterijom *B.bronchiseptica* (RANDOPLH i sur., 1993.). Postoji mogućnost da infekcija bakterijom *B.bronchiseptica* predisponira donje dišne prohode na mikoplazmatsku kolonizaciju ili da su mikoplazme primarni patogeni koji sinergistički djeluju sa bakterijom *B.bronchiseptica* (PEETERS i sur., 2000.).

Iako se pojavljuje u zdravih i klinički bolesnih pasa, *Mycoplasma cynos* bila je jedina vrsta mikoplazma značajno povezana sa oboljenjem dišnog sustava (CHALKER i sur., 2004.). Patološke promjene uključuju konsolidaciju pluća koja se može osjetiti palpacijom tkiva, gubitak respiratornih cilija na epitelnim stanicama, akutnu kataralno-supurativnu, hemoragičnu ili fibrinonekrotizirajuću bronhopneumoniju, edem pluća te hiperplaziju i ljuštenje pneumocita (CHVALA i sur., 2007.; HONG i KIM, 2012.; ZEUGSWETTER i sur., 2007.). U pasa sa respiratornim oboljenjima dijagnoza mikoplazmoze je u niskom broju, čemu doprinosi manjak istraživanja posvećenih bakteriji *M.cynos* tijekom godina (PRIESTNALL i sur., 2014.).

#### 2.5.2.4. *Staphylococcus* spp.

Stafilokoki predstavljaju raznolik rod fakultativno anaerobnih bakterija reda *Baccillales*. Gram i katalaza pozitivne bakterije okruglog oblika, sklone su pojavljivati se u nakupinama nalik grozdu. Fakultativni su anaerobi, nepokretne i ne tvore spore. Proizvode mnoge enzime i toksine o kojima često najizravnije ovisi patogenost vrsta ili virulencija pojedinih sojeva (NAGLIĆ i sur., 2005.). Široko su rasprostranjene među životinjama i česti su komenzali koži i sluznicama. Stafilocoki su tipični oportunistički patogeni pronađeni u klinički zdravih jedinki, a u isto vrijeme su važan uzročnik oboljenja (GREENE, 2012.). Dijele se na dvije osnovne grupe ovisno o mogućnosti stvaranja enzima koagulaze. Koagulaza-pozitivni (KP) stafilocoki najvirulentnija su skupina i najčešće se povezuju sa uzrokovanjem bolesti. U pasa, najbitniji KP stafilocoki su *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus coagulans*. Koagulaza-negativni (KN) stafilocoki su u velikom broju slučajeva komenzalni organizmi, ali unatoč tomu mogu uzrokovati bolest (GREENE, 2012.) i biti od kliničke važnosti (EPSTEIN, 2015.). Ova grupa uključuje bakterije *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus schleiferi* i *Staphylococcus felis* (GREENE, 2012.).

U kućnih ljubimaca najčešće se pojavljuje infekcija bakterijom *Staphylococcus pseudintermedius* (EPSTEIN, 2015.). Istraživanja su pokazala da predstavlja komenzalni mikroorganizam s postotkom od 31% do 68% prisutstva u zdravih pasa. Pretpostavlja se da visok postotak zdravih pasa ima ulogu asimptomatskog nosioca ove bakterije. Najčešći

dijelovi tijela koji su kolonizirani bakterijom *S.pseudintermedius* su nosni prohod, usna šupljina, koža i sluznica perineuma. Mali postotak pasa razvije klinički vidljivu infekciju unatoč širokoj rasprostranjenosti bakterije, a uobičajeno je potrebna i neka vrsta oštećenja na koži za njen razvitak. U pasa se razvijaju oportunističke infekcije uzrokovane bakterijom *S.pseudintermedius*, ali nije poznat utjecaj prijelaznih ili kratkotrajnih kolonizacija na rizik od razvoja bolesti. Meticilin-rezistentan *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) smatra se emergentnim problemom u maloj praksi veterinarske medicine, koji zahtijeva hitne postupke u cilju sprječavanja njegovog širenja. MRSP može se ustanoviti i u klinički zdravih pasa. Prevalencija kolonizacije u pasa varira od 1,5% do 17% (GREENE, 2012.).

U zdravih pasa bakterija *Staphylococcus aureus* nalazi se u postotku od 12 do 14%, s najvećim brojem izolata nađenih je na koži i ušima. Može se izolirati iz zdravih pasa, ali svejedno uzrokuje bolest u određenim situacijama. Rast pojavnosti bakterije meticilin-rezistentnog *Staphylococcus aureus* (MRSA) u životinja je direktan odraz infekcija u ljudi, zbog čega joj se prododaje posebna pažnja (GREENE, 2012.). *S. aureus* tvori brojne enzime i toksine koji zajednički utječu na virulenciju pojedinih sojeva. Enzim beta-laktamaza inducibilan je enzim koji razgrađuje penicilinske antibiotike i o tvorbi navedenog enzima ovisi otpornost sojeva prema navedenim antibioticima (NAGLIĆ i sur., 2005.).

#### 2.5.2.5. *Enterobacteriaceae*

Obitelj *Enterobacteriaceae* uključuje više od 100 vrsta, a najpoznatiji članovi su roda *Escherichia* - *Escherichia coli*, *Proteus* spp. i *Klebsiella* spp. Bakterije ove obitelji su gram-negativne, štapičastog oblika i fakultativni anaerobi koji fiziološki obitavaju u probavnom sustavu brojnih sisavaca (GREENE, 2012.). Biokemijski su vrlo aktivne, pa se međusobno razlikovanje i identifikacija unutar porodica osniva na istraživanju biokemijskih osobina i dokazivanju pojedinih enzima. Enterobakterije su podijeljene na vrste koje fermentiraju laktozu - laktoza pozitivne, i vrste koje taj šećer ne fermentiraju – laktoza negativne ili koliformne (NAGLIĆ i sur., 2005.). Međunarodno prepoznata klasifikacija temelji se na antigenim razlikama visoko varijabilnih površinskih molekula bakterije. Serogrupa se određuje prema somatskim O-antigenima, serotip prema flagelarnim H-antigenima, dok se K-antigeni određuju u sojevima koji imaju kapsulu (GREENE, 2012.). Fimbrijskim ili pilusnim antigenima pridaje se velika važnost budući da su pojedine fimbrije odgovorne za sposobnost adhezije enterobakterija na sluznicu, o kojoj ovisi patogenost soja (NAGLIĆ i sur., 2005.). Enterobakterije su često izolirane s epitela i spontano pronađene u infekcijama nekoliko



organskih sustava pasa. Mogu uzrokovati sepsu i oportunističke infekcije u određenih životinja koje su imunokompromitirane ili izložene stresu. U patogeneze gram-negativnih bakterija, bitna je proizvodnja endotoksina, koji stimuliraju kaskadu citokina i komplementa, što dovodi do iznimne aktivacije obrambenih mehanizama domaćina. U slučaju pretjerane aktivacije ovih sustava, u životinje može doći do septičnog šoka (GREENE, 2012.). Bakterije ove obitelji pronađene su u 30% pasa koji su pokazivali kliničke simptome respiratorne bolesti (RHEINWALD i sur., 2014.).

Bakterija *E.coli* ima oblik ravnih štapića sa zaobljenim krajevima. Sojevi koji imaju fimbrije ili pile, imaju sposobnost hemaglutinacije. Pojedine fimbrije imaju važnu ulogu u prijenosu gentskog materijala konjugacijom, a pomoću drugih – ”adhezijskih” soj se može pričvrstiti za sluznicu. Svi sojevi vrste *E.coli* tvore endotoksine, a neki mogu tvoriti i egzotoksine, koji imaju važnu ulogu u patogenezi bolesti (NAGLIĆ i sur., 2005.). Za bakteriju *E.coli* pronađeno je najmanje 170 različitih serogrupa, sa korelacijom između serogrupe i stupnja virulentnosti (GREENE, 2012.). Mnogi sojevi predstavljaju komenzalne organizme crijeva klinički zdravih jedinki i dio su prirodne mikroflore odmah po rođenju. *E.coli* obitava u debelom crijevu i završnom dijelu tankog crijeva svih sisavaca, posebno mesojeda i svejeda. Razna patološka stanja u ljudi i životinja može uzrokovati kao primaran ili sekundaran uzročnik (NAGLIĆ i sur., 2005.). Patogeni sojevi bakterije *E.coli* podijeljeni su na bazi svojih virulentnih svojstava na patovare. Neki patovari uzrokuju proljev, a patogene vrste *E.coli* izvan gastrointestinalnog sustava su uropatogena *E.coli* (UPEC) i neonatalna meningitis *E.coli* (NMEC). Izbijanje fatalne hemoragijske pneumonije i bakterijemije u pasa smještenima u skloništu pripisana je patogenoj *E.coli* koja je bila pozitivna na faktore virulentnosti alfa-hemolizin i CNF-1. Nekrotoksogena *E.coli* izolirana je iz pluća psa kojemu je dijagnosticirana fatalna perakutna hemoragična pneumonija (GREENE, 2012.).

Od nekoliko vrsta iz roda *Klebsiella* u medicinskom smislu posebnu važnost valja pridati bakteriji *Klebsiella pneumoniae*, koja je ujedno i predstavnik roda. Ostale vrste tih bakterija rijetko se nalaze u kliničkom materijalu kao uzročnici oportunističkih infekcija. *Klebsiella pneumoniae* bakterija je s dobro izraženom kapsulom koja je štiti od fagocitoze domaćina. Nije pokretljiva, a posjeduje somatske-O i kapsularne-K antigene. Sojevi vrste *Klebsiella pneumoniae* podijeljeni su na tri podvrste na osnovi razlika u fiziološkim osobinama: *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, *K. pneumoniae* subsp. *ozenae* i *K. pneumoniae* subsp. *rhinoscleromatis*. Bakterije ovoga roda obitavaju na sluznicama čovjeka i životinja, posebice u crijevu, odakle dospijevaju u okolinu. Bakterija *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* uvjetno

je patogeni mikrob, koji u pasa razmjerno često uzrokuje upalu mokraćnog sustava, pneumoniju ili septikemiju (NAGLIĆ i sur., 2005.). Ova vrsta pripada nazofaringealnoj i crijevnoj flori jedinke, a može biti povezana s klinički bitnim infekcijama gastrointestinalnog i genitourinarnog trakta, te sa sistemskom bakterijemijom koja dovodi do multiplog zatajenja organa (MODS) u pasa (GREENE, 2012.).

Bakterijski rod *Pseudomonas* obuhvaća više od 14 bakterijskih vrsta, oblika ravnih ili pomalo zavijenih štapića. Pokretljive su, aerobne i imaju respiracijski tip metabolizma. U prirodi su veoma proširene, a većina bakterija ovog roda ponaša se kao saprofit obitavajući u tlu, slatkoj ili slanoj vodi i različitom organskom materijalu. Pojedine vrste su patogene za čovjeka i životinje. Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* posjeduje fimbrije kojima se pričvršćuje za tkivne stanice domaćina, a ponekad je okružena sluzavim slojem sličnim kaspuli. Tvori više pigmenata koji se šire u hranjivu podlogu, među kojima je za tu vrstu karakteristični topljivi plavozeleni pigment (piocianin) (NAGLIĆ i sur., 2005.). Iako se može izolirati iz gornjeg respiratornog, genitalnog i probavnog sustava i kože, brojnost im se kontrolira kompetencijom s drugim bakterijama fiziološke mikroflore. Upala, ozljeda ili uporaba antimikrobnih pripravaka može dovesti do njene proliferacije. Uglavnom uzrokuje infekciju onih organizama kojima je oslabljen imunostni sustav (GREENE, 2012.).

Bakterije roda *Pasteurella* spp. nepokretne su bakterije kokobacilarna, ovalna ili štapićasta oblika (NAGLIĆ i sur., 2005.). Imaju izraženu sposobnost tvorbe kapsule i kapsularnog polisaharida, zbog kojeg je moguće identificirati specifične serotipove (GREENE, 2012.). Ubrajaju se u aerobe ili fakultativno anaerobne mikrobe (NAGLIĆ i sur., 2005.). Kao i većina gram negativnih bakterija, posjeduju endotoksičnu aktivnost (GREENE, 2012.). U sojeva vrste *Pasteurella multocida* ustanovljeni su kapsularni-K i somatski O-antigeni. Neki serovari su patogeni za određene životinjske vrste i uzrokuju infekcije pojedinih tkiva ili pak samostalne zarazne bolesti. Pojedini sojevi proizvode dermonekrotoksin koji je srodan s citotoksičnim nekrotizirajućim faktorom bakterije *E.coli*. Brzo propadaju izvan organizma, pa je prvotno obitavalište bakterije na sluznicama prednjih dišnih prohoda primljivih životinja. Prisutnost na sluznicama zdravih životinja jasno upućuje na zaključak da je *P. multocida* uvjetno patogena bakterija. Može biti primaran uzročnik bolesti, kao i uzročnik sekundarnih infekcija. Najčešće prodire kroz dišni sustav, ili je u latentnom obliku već prisutna u životinji, pa je riječ o aktiviranoj endogenoj infekciji (NAGLIĆ i sur., 2005.).

### 2.5.3. Virusni uzročnici

Organizmi povezani s virusnim oboljenjima su ubikvitarni, a stres potaknut novom okolinom i izlaganju novim patogenima ima ulogu u patogenezi. U većine slučajeva, znakovi dišnog sustava su prisutni danima i tjednima, a životinje pokazuju blage do umjerene kliničke simptome (MELLEMA, 2004.). Virusno-bakterijske koinfekcije dišnog sustava često su dokazane u pasa držanih u gustim populacijama (SCHULZ i sur., 2014.). Međutim, u slučaju zaraznog traheobronhitisa, vjerojatnije je da virusi sinergistički djeluju kako bi predisponirali pse na sekundarne bakterijske infekcije što uzrokuje dulju i ozbiljniju kliničku sliku bolesti (PRIESTNALL i sur., 2014.). Epidemiološki podaci i laboratorijska istraživanja podržavaju zaključak da respiratorni virusi predisponiraju organizam na razvoj sekundarnih bakterijskih infekcija (JOSEPH i sur., 2013.; HAMENT i sur., 1999.). Nekoliko mehanizama pridonosi navedenoj situaciji: virusi unište dišni epitel čime olakšavaju adheziju bakterija, dok virusna infekcija regulira ekspresiju molekula koje zatim bakterije koriste kao receptore. Imunosupresija uzrokovana virusnom infekcijom potiče sekundarne bakterijske infekcije (HAMANT i sur., 1999.; PELTOLA i MCCULLERS, 2004.).

Pseći parainfluenca virus (CPIV) bitan je patogen dišnog sustava i u sisavaca i u ptica, koji pripada obitelji *Paramyxoviridae*. Visoko je zarazan i prevalencija infekcije povezana je s gustoćom populacije pasa. Širi se direktnim dodirima s inficiranim aerosolom (APPEL i BINN, 1987.), najbrže u skloništima za životinje gdje je velik broj pasa držan na malom prostoru (ERLES i sur., 2004.). Često je izoliran iz uzoraka pasa sa akutnim i suhim kašljem (LOBETTI, 2006.), te u čak 19% trahealnih i 10% plućnih uzoraka pasa gdje zaradni traheobronhitis endemski perzistira unatoč redovnim cijepljenjima (ERLES i sur., 2004.). Uzrokuje akutnu upalnu reakciju gornjih i donjih dišnih prohoda i područnih limfnih čvorova. U jednostavnim slučajevima, klinički znakovi uključuju blagi porast tjelesne temperature, suhi kašalj, vodenast nosni iscjedak, upalu ždrijela i tonzila (APPEL i BINN, 1987.). Većina pasa čini se zdravima, no ako dođe do infekcije drugim uzročnicima u imunokompromitiranih ili mladih necijepljenih pasa, simptomi se mogu pogoršati pojavom inapetence, letargije i upale pluća (BUONAVOGLIA i MARTELLA, 2007.). U istraživanju emergentnih patogena, potvrdilo se da je parainfluenca virus jedan od glavnih uzročnika zaraznog traheobronhitisa pasa (DECARO i sur., 2016.).

Pseći adenovirus tipa-2 (CAV-2) uzrokuje blage infekcije respiratornog trakta i smatra se jednim od uzročnika zaraznog traheobronhitisa (THAM i sur., 1998.). Psi izloženi isključivo CAV-2 rijetko pokazuju kliničke znakove bolesti, no pri koinfekcijama virusnim ili bakterijskim uzročnicima, pojavljuje se klinička slika zaraznog traheobronhitisa pasa (APPEL i BINN, 1987.). Klinički znakovi uključuju povišenu tjelesnu temperaturu, letargiju i suhi kašalj. Također, može voditi do ozbiljnijeg traheobronhitisa, pojavom mikoplazma, sekundarnih bakterijskih infekcija (LOBETTI, 2006.) ili do nekrotizirajućeg bronhitisa. Virus je izoliran iz 15% obrisaka ždrijela u štenaca sa ili bez prisutnih znakova dišnog sustava koji su dovedeni na rutinsko cijepljenje (APPEL i BINN, 1987.). Štenci i laboratorijski psi dokazani su kao nosači CAV-2 u respiratornom sustavu (APPEL i BINN, 1987.; BINN i sur., 1968.), dok u cijepljenih pasa nije pronađeno prisutstvo virusa (ERLES i sur., 2004.).

Pantropni pseći koronavirus (CCoV) smatra se primarno crijevnim patogenom niske virulencije koji je često izoliran iz pasa sa proljevom, ali i klinički zdravih pasa (DECARO i BUONAVOGLIA, 2008.). Kako bi se razlikovao od slučajeva isključivo crijevnog tropizma, uveden je termin „*pantropni pseći koronavirus*“ (CCoV). Za razliku od psećeg respiratornog koronavirusa (CRCoV) koji pripada rodu *Betacoronavirus*, CCoV pripada rodu *Alphacoronavirus* i blisko je povezan s mačjim koronavirusom (FCoV) i virusom svinjskog zaraznog gastroenteritisa (TGEV) (DECARO i sur., 2009.; ERLES i BROWNLIE, 2009.). Histopatološki, u bronhima, bronhiolima i alveolama oboljelih životinja nalazi se fibrinopurulentni eksudat, epitel bronha i bronhiola je degeneriran, a u alveolama je vidljivo krvarenje i edem (ZAPPULLI i sur., 2008.). Veliko istraživanje populacije pasa sa kliničkim znakovima leukopenije, enteritisa, respiratornog distresa i/ili neuroloških znakova, u 10% slučajeva izdvojilo je CCoV izvan gastrointestinalnog sustava (DECARO i sur., 2007.).

Pseći respiratorni koronavirus (CRCoV) povezan je s bolestima dišnog sustava pasa u skloništima (ERLES i BROWNLIE, 2008.), no nađen je i u pasa koji su imali umjerenu bolest dišnog sustava (BUONAVOGLIA i MARTELLA, 2007.). Zajednička istraživanja izbijanja bolesti i kliničkih slučajeva upućuju na zaključak da je CRCoV povezan s blagom bolesti dišnog sustava u ranim fazama zaraznog traheobronhitisa, s tipičnim kliničkim znakovima suhog kašlja i nosnog iscjetka (ERLES i BROWNLIE, 2005.; ERLES i sur., 2004.; ERLES i sur., 2003.). Virus pokazuje tropizam prema tkivima dišnog sustava (MITCHELL i sur., 2013.). Uloga u kompleksu zaraznog traheobronhitisa nije u potpunosti jasna i vjerojatno je da infekcija ovim virusom potiče subkliničku ili blagu bolest dišnog sustava. Istovremeno, virus je sposoban uništiti respiratorni epitel i predisponirati psa bakterijskoj infekciji

(MOCHIZUKI i sur., 2008.). CRCoV visoko je prisutan u populaciji pasa sa sveukupnom seropozitivnošću od 47%, a njegov nalaz povezan je s povećanom ozbiljnosti kliničke slike (MITCHELL i sur., 2018.), pogotovo u mladim životinja (BUONAVOGLIA i MARTELLA, 2007.).

Infekcija psećim herpesvirusom (CHV) štenaca mlađih od 2 tjedna može završiti fatalnim, nekrotizirajućim i hemoragičnim oboljenjem, dok štenci stariji od 2 tjedna i odrasli psi često ne pokazuju nikakve kliničke znakove (CARMICHAEL i sur., 1965.). Nakon simptomatskih i aspimtomatskih infekcija, psi ostaju latentno inficirani i virus se može početi izlučivati u bilo kojem trenutku. CHV je dokazan u pasa sa zaraznim traheobronhitisom, a njegova ponovna aktivacija može biti potaknuta stresom ili imunosupresivnim lijekovima poput kortikosteroida (BINN i sur., 1979.).

Influenza virus (CIV) podijeljen je na podtipove ovisno o dva površinska antigena – proteine hemaglutinin i neuraminidazu (KRUTH i sur., 2008.). Virus se množi u epitelnim stanicama dišnog sustava, što uzrokuje nekrozu epitela, infiltraciju neutrofila i posljedičnu infiltraciju dišnih prohoda sa mononuklearnim upalnim stanicama (TAUBENBERGER i MORENS, 2008.). Opisana su dva tipa kliničke manifestacije CIV-a u pasa. Najčešća je blaža, prolazna bolest dišnog sustava koja započinje povišenom tjelesnom temperaturom, kihanjem, kašljem i očnim i purulentnim nosnim iscjetkom (DUBOVI, 2010.). Druga, perakutna i potencijalno smrtonosna manifestacija karakterizirana je plućnim, pleuralnim i medijastinalnim krvarenjem i može biti posljedica sekundarne bakterijske infekcije (SHINYA i sur., 2010.). Histološke promjene koje prate infekciju CIV-om nespecifične su i razlikuju se od umjerenog traheitisa i bronhitisa do supurativne bronhopneumonije (CASTLEMAN i sur., 2010.). CIV je dokazano najzastupljeniji u grupama pasa na mjestima poput skloništa i može se vrlo brzo širiti u imunološki naivnih životinja svih dobi (DUBOVI, 2010.). Prije 2004.godine, CIV nije bio smatran specifičnom bolesti u pasa, niti su psi smatrani rezervoarima virusa (GIBBS i ANDERSON, 2010.), dok se danas zna da nekoliko tipova CIV kruže u populaciji pasa, a sposobni su mijenjati domaćina i vrstu na kojoj obitavaju (PRIESTNALL i sur., 2014.). Iako je samo 2.7% pasa bilo je seropozitivno na influenza-A virus (MITCHELL i sur., 2018.), bitno je naglasiti važnost stalnog opreza sa medicinske i veterinarske strane koji se tiče povećanog rizika virusne genetske izmjene, s obzirom na bliski kontakt vlasnika i pasa (PRIESTNALL i sur., 2014.).

Pseći pneumovirus (CPV) često je izvojen u pasa s problemima dišnog sustava (RENSHAW i sur., 2011.; RENSHAW i sur., 2010.), a bio je prisutan u 41.7% ukupne populacija pasa u istraživanju emergentnih patogena povezanih sa zaraznim traheobronhitisom (MITCHELL i sur., 2018.). Njegova uloga kao uzročnika bolesti nije dovoljno istražena i potrebno je provesti opsežna serološka istraživanja kako bi se utvrdila njegova globalna prisutnost i poveznica s kliničkom bolesti (PRIESTNALL i sur., 2014.).

Pseći reovirus (CRV) ne predstavlja značajnog etiološkog uzročnika zaraznog traheobronhitisa, infekcije su blage i ograničene na pluća koja pokazuju eksudaciju makrofaga u alveolarni prostor i difuzno zadebljanje alveolarnih septi (LOBETTI, 2006.).

#### 2.5.4. Gljivični uzročnici

Među uzročnicima zaraznih bolesti u pasa nalaze se i pripadnici vrlo raznolike skupine eukariotskih mikroba koji su široko rasprostranjeni u prirodi, a poznati su pod nazivom gljivice. Gljivice su uglavnom oportunistički patogeni, a kao komenzali često se nalaze na koži i sluznicama čovjeka i životinja. Razvoju gljivične infekcije i pojavi patoloških promjena pogoduje dugotrajno liječenje antibioticima, mješovite infekcije drugim mikrobima, ozljede kože i sluznica, imunodeficijencije i drugi činitelji. Pretežno su kroničnog tijeka i očituju se granulomatoznim tipom upale, što upućuje na reakciju preosjetljivosti kasnog tipa. Gljivične infekcije donjih dišnih prohoda mogu se manifestirati kao primarna upala pluća ili sistemsko oboljenje sa diseminacijom u pluća i druge organe (NORRIS, 2004.). Klinički znakovi, anamneza i pregled pacijenta vode do sumnje na mikotično obolijevanje, a konačna dijagnostika traži izdvajanje i identifikaciju mikroorganizma (DIAL, 2007.). Gljivične infekcije su pronađene u 8,7% slučajeva kroničnih nosnih bolesti (MELER i sur., 2008.).

*Coccidioides immitis* je plijesan u tlu sastavljena od hifa sa sekundarnim granama i lancem infektivnih artrokonidija (NORRIS, 2004.). Diseminirati se može na gotovo sva tkiva, što dovodi do širokog raspona kliničkih znakova izvan dišnog sustava. U pasa sa kroničnim respiratornim oboljenjima, pojavom šepavosti i neuroloških znakova, koji su unutar tri godine putovali u endemsko područje, trebalo bi se posumnjati na vrstu *C.immitis* (JOHNSON, i sur., 2003.).

*Histoplasma capsulatum* je dimorfna gljivica karakterizirana septalnim hifama sa mirokonidijama i makrokonidijama (HIRSH i BIBERSTEIN, 2004.). Endemski se nalazi na umjerenim i subtropskim područjima (GREENE, 2006.). Infektivne gljivične čestice – mikrokonidije i makrokonidije, u slučaju da su udahnute ulaze u terminalne dišne puteve (LEGENDRE, 2006.) i pretvaraju se u parazitski stadij (HIRSH i BIBERSTEIN, 2004.). Virulentni faktori *H.capsulatum* omogućavaju joj da uđe unutar fagocita i posljedično se proširi rano u razvoju bolesti (HIRSH i BIBERSTEIN, 2004.; GREENE, 2006.; HOLLBROOK i RAPPLEYE, 2008.). Kod histoplazmoze, noduli su karakteristični po granulomatoznoj upali sa epiteloidnim makrofagima, unutar kojih se nalaze divovske stanice, mali broj neutrofila, plazma stanice i limfociti (GREENE, 2006.).

*Blastomyces dermatitidis* nalazi se na tlima niske pH vrijednosti pored vodenih površina (LEGENDRE, 2006.), a karakteriziraju ih hife sa sferičnim ili ovalnim konidijama (HIRSH i BIBERSTEIN, 2004.). Vrsta *B.dermatitidis* se brzo širi po drugim organima preko krvnog i limfatičnog optoka (LEGENDRE, 2006.). U blastomikoze, noduli sadrže piogranulome ili granulome koji povremeno sadrže kazeoznu nekrozu sa tankim slojem makrofaga. Broj kvasaca unutar lezije razlikuje se tijekom opsežne upalne reakcije (CASWELL i WILLIAMS, 2007.).

#### 2.5.5. Paraziti

Paraziti dišnog sustava u pasa su prepoznati diljem svijeta, a rezultiraju eozinofilnom upalom pluća i/ili bronhitisom, dok neki mogu uzrokovati eozinofilnu granulomatozu. Većina parazitaranih respiratornih infekcija ima predvidiv način prijenosa koristeći intermedijarnog domaćina ili paratenične domaćine u svojem ciklusu prijenosa. Za mnoge parazite, pas nije konačan domaćin, nego su to divlji kanidi poput lisice i vuka. To objašnjava zašto psi često razvijaju ozbiljne kliničke znakove i u nekim slučajevima razviju bolest opasnu po život (CORCORAN, 2015.).

*Oslerus osleri* nematodni je parazit koji je specifičan po naseljavanju traheje, trahealne bifurkacije i prvog grananja bronha (SHREDING, 2004.). Uzrokuje traheobronhitis, (CORCORAN, 2015.), a infekcije mogu biti subkliničke ili uzrokovati kroničan kašalj koji se pogoršava s fizičkom aktivnošću (CONBOY, 2009.). Noduli po sluznici dišnog sustava sadrže namotane adulte unutar limfatičkog tkiva, okružene rahlim vezivnim tkivom i upalnom reakcijom (BOWMAN, 2003.). Životni ciklus je direktan sa širenjem preko sline sa majke na štence (YAO i sur., 2011.) ili fekooralnim putem (CONBOY, 2009.). Danas je smanjena

incidencija navedenog parazita zbog češćeg korištenja antihelminatika u gravidnih kuja (CORCORAN, 2015.). Liječenje se temelji na obustavi stvaranja larvi, rješavanju kliničkih znakova i uklanjanja trahealnih i bronhalnih nodula (BOWMAN, 2003.).

*Crenosoma vulpis* naseljava dušnik, bronhe i bronhiole čime uzrokuje kronični bronhitis karakteriziran kroničnim kašljem (CONBOY, 2009.). Larve prvog stadija izlučuju se fecesom nakon što su iz dišnog sustava iskašljane i progutane, pa posljedično inficiraju puževe koji služe kao intermedijarni nosioci (CONBOY, 2009.; SHAW i sur., 1996.). U usporedbi s parazitom *O.osleri*, *C.vulpis* je češće pronađen unutar bronha, praćen eritremom, mukoidnim iscjetkom ili hiperplastičnim nodulima (REAGAN i ARONSOHN, 2012.). Uspješno liječenje postignuto je oralnom primjenom fenbendazola (SHAW i sur.,1996.; BIHR i CONBOY,1999.; REILLY i sur., 2000.; PETERSON i sur., 1993.).

*Filaroides hirthei* i *Filaroides milksi* su veoma slični paraziti alveola i terminalnih dišnih prohoda koji uzrokuju multifokalnu intersticijsku upalu pluća (SHERDING, 2004.). Životni ciklus *F.milksi* je nepoznat, dok se prijenos *F.hirthei* odvija preko peroralnog unosa larvi prvog stadija iz fecesa (CONBOY, 2009.). Infekcije su često subkliničke, iako imunosuprimirani psi mogu pokazivati znakove akutnog ili kroničnog kašlja s dispnejom (NELSON i SELTON, 2005.; SHERDING, 2004.). Konačna dijagnoza uspostavlja se pronalaskom larvi u bronhijalnoj sluzi ili fecesu (CONBOY, 2009.; CRAWFORD, 2000.; PINCKNEY i sur., 1988.; RUBASH, 1986.). Terapija uključuje oralnu primjenu fenbendazola (CRAWFORD, 2000.).

Infekcija parazitom *Pneumocystis carinii* širi se aerogenim putem, a smatra se da je češća u životinja oslabljenog imunološkog odgovora (NAGLIĆ i sur.,2005.). Klinička slika pneumonije uzrokovane *P.carinii* u pasa temelji se na sumnji ili dokazivanju istovremene stanične imunodeficijencije ili već postojeće plućne bolesti (NELSON i SELTON, 2005.; GREENE i sur., 2006.). Mikroskopski, alveoli su ispunjeni eozinofilnim materijalom, a alveolarne septe mogu biti zadebljane ili fibrozne u kroničnih infekcija (GREENE i sur., 2006.). Kombinacija trimetoprima i sulfonamida je korištena za uspješno liječenje pneumocistoze (NELSON i SELTON, 2005.;GREENE i sur., 2006.), a istovremeno je često započeta i simptomatska terapija davanjem kisika, mukolitika i bronhodilatatora (LOBETTI i sur., 1996.).



Toksoplazmoza je uzrokovana globalno proširenim protozoalnim parazitom *Toxoplasma gondii*, a bolest može biti od kliničke važnosti za gotovo sve životinje, uključujući ptice i ljude. Tijek bolesti započinje povišenom tjelesnom temperaturom, anoreksijom ili dispnejom, a nastavlja se specifičnim znakovima neurološkog i dišnog sustava. Domaće mačke i felidi su konačni nosioci, dok su ostale vrste životinja, uključujući psa, posredni domaćini koji rijetko oboljevaju od toksoplazmoze (CALERO-BERNAL i GENNARI, 2019.). Upala pluća je glavni znak generalizirane toksoplazmoze (BROWNLEE i SELTON, 2001.), a moguća je pojava akutnog respiratornog distresa i septičnog šoka (EVANS i sur., 2017.). Često su istovremeno uključeni i drugi organski sustavi poput jetre, limfnih čvorova, mišića i oka (LOBETTI, 2006.). U obzir bi se trebalo uzeti i određivanje serološkog statusa životinje na *T.gondii* prije korištenja lijekova poput ciklosporina, koji su potencijalni inhibitori staničnog imuniteta (CALERO-BERNAL i GENNARI, 2019.).

## 2.6. PATOGENEZA I KLINIČKA SLIKA U ZARAZNIH BOLESTI DIŠNOG SUSTAVA

Klinička slika respiratornih infekcija je varijabilna; od pojave blage dispneje, kihanja i kašljanja do ozbiljne pneumonije sa sistemskim očitovanjem. Ovisno o uzročniku, kliničke i mikroskopske promjene mogu biti nespecifične ili imati iznimno karakterističan uzorak. Morfološke promjene tako će se razlikovati od blažih promjena krvožilnog sustava (edem, kongestija sluznice) do snažnih plućnih upala. Navedene patološke promjene narušavaju homeostazu i očituju se klinički kao respiratorna disfunkcija (VIESON i sur., 2012.).

### 2.6.1. Gornji dišni prohodi

Ovisno o tipu eksudata, rinitis se dijeli na serozni, fibrinozni, kataralni, purulentni ili granulomatozni. Navedeni tipovi upalnih reakcija mogu napredovati iz jedne vrste u drugu tijekom razvoja bolesti. U nekim slučajevima, eksudati mogu biti miješani, poput mukopurulentnog ili piogranulomatoznog (LOPES i MARTINSON, 2017.). Klinički simptomi akutnog rinitisa uključuju kašalj, kihanje i nosni iscjedak (MOCHIZUKI i sur., 2008.; CORCORAN, 2015.). Kako stanje biva kronično, iscjedak može imati primjese krvi, s pojavom epistakse, stretora i deformacije lica s pojavom bolnosti. U kroničnog rinitisa, uočljive su hiperplastične promjene sluznice nosa i sekundarne bakterijske infekcije, od kojih neke mogu biti prilično duboke i zahvatiti obližnje koštane strukture. U kroničnih slučajeva nosnih bolesti pasa prevladavaju klinički znakova nespecifičnog rinitisa, stranih tijela ili neoplazija. Gljivični rinitis klinički se očituje mukopurulentnim nosnim iscjedkom, kihanjem, epistaksom, depigmentacijom nosa i ulceracijom sluznice. Rinosinusitis uzrokovan gljivicama

sam po sebi predstavlja kronično stanje (CORCORAN, 2015.). U naprednim slučajevima gljivičnog rinitisa vidljiva je deformacija lica sa mogućom opstrukcijom suznog kanala i epiforom, dok stertor i stridor mogu, ali ne moraju nužno biti uočeni na kliničkom pregledu (MATHEWS i SHARP, 2006.).

Klinički znakovi dišnog sustava mogu biti praćeni povišenom tjelesnom temperaturom, letargijom i anoreksijom, ovisno o ozbiljnosti infekcije. Bakterija *Bordetella bronchiseptica*, CPIV i CAV-2 najčešće su izolirani uzročnici rinitisa (MOCHIZUKI i sur., 2008.). Morfološke promjene su nespecifične i uključuju hiperemiju i otečenje sluznice. Histološki, pojavljuje se balonska degeneracija nosnog epitela, praćena gubitkom cilija i submukoznim edemom. U težim slučajevima bakterije sekundarno invadiraju epitel, zbog čega dolazi do nekroze s deskvamacijom epitela. Kronične slučajeve obilježava obilna količina fibroznog vezivnog tkiva, atrofija mukoznih žlijezdi i displazija epitela (VIESON i sur., 2012.). Klinički pregled trebao bi uključivati detaljnu inspekciju gornjih dijela dišnih prohoda, kako bi se uočili znakovi poput kongestije ili iscjetka i auskultaciju traheje. Česta je pojava infekcije donjih dišnih prohoda kao nastavak epitelne infekcije uzrokovane nazofaringealnom regurgitacijom sekreta gornjih dišnih prohoda (DEAR, 2014.).

#### 2.6.2. Donji dišni prohodi

Opisana su dva klinička oblika zaraznog traheobronhitisa u pasa – jednostavan i složen. Jednostavan oblik je prošireniji u populaciji, karakteriziran suhim i ostrim kašljem, često povezanim sa povraćanjem. Primarno su inficirani dušnik i bronhi. Složeni oblik razlikuje se od jednostavnog pojavom kliničkih znakova pneumonije. Složen tijek bolesti razvija se kao posljedica koinfekcija (CHALKER i sur., 2003.; CHVALA i sur., 2007.; SCHULZ i sur., 2014.), te je opisan u mladih i imunokompromitiranih pasa. Tijek traheobronhitisa može napredovati do bronhopneumonije i u najgorem slučaju, do uginuća (APPEL i BINN, 1987.).

Osim virusnih uzročnika, poput izolirane virusne infekcije CPIV-om koja može dovesti do klinički bitne i ponekad letalne respiratorne infekcije (CRAWFORD i sur., 2005.), česta je pojava sekundarnih bakterijskih infekcija, u kojima se uključuje i plućno tkivo (APPEL i BINN, 1987.). Lezije dišnog sustava u zaraznog traheobronhitisa razlikuju se od naizgled normalnih dišnih prohoda do hiperemije i mukopurulentnog eksudata, ovisno o ozbiljnosti infekcije i pojavnosti sekundarnih bakterijskih infekcija. Limfno tkivo povezano s dišnim sustavom ( tonzile, retrofaringealni i trahealni limfni čvorovi) ponekad su umjereno povećani, a sekretorne žlijezde mogu postati hiperplastične. Histološki, promjene su ograničene na

dušnik i bronhe, a karakterizirane su limfoplazmacitnom infiltracijom i intersticijskim edemom. Nekroza epitela je rijetka, dok je u težim slučajevima moguće zatvaranje lumena traheje i bronha obilnim mukoznim sekretom izmješanim sa neutrofilima i bakterijskim kolonijama (VIESON i sur., 2012.). Uobičajeno je da su klinički znakovi samoograničavajući, iako sa pojavom predisponirajućih uvjeta poput prevelike gustoće naseljenosti ili imunološke deficijencije, mogu postati veoma ozbiljni do letalni (FORD, 2012.).

Klinički znakovi bakterijske pneumonije variraju ovisno o uzroku, ozbiljnosti i kronicitetu bolesti. Nastup može biti akutni, perakutni ili pak suptilan, koji rezultira kroničnom bolesti. Znakovi poput sporadičnog, blagog kašlja mogu biti jedini dokaz bolesti u početnoj fazi razvoja pneumonije. Daljnjim napretkom infekcije sistemski znakovi postaju vidljiviji, pojavljuje se produktivni kašalj, nemogućnost obavljanja fizičke aktivnosti, anoreksija, letargija i cijanoza. Vlasnici primjećuju promjenu u načinu disanja, sa pojačanim dahtanjem i ubrzanim disanjem. Nalaz kliničkog pregleda varira sa stanjem i ozbiljnosti bolesti. U pasa s umjerenim nastupom bolesti rani trag za dijagnozu može biti promjena u obrascu disanja, sa povećanjem frekvencije i truda uloženog u disanje. Povišena tjelesna temperatura može i ne mora biti prisutna, tako da ona nije pouzdan indikator bolesti. Kliničar treba posebnu pažnju obratiti na auskultaciju prsnog koša jer dodatni zvukovi pluća (poput pucketanja ili hroptanja) mogu biti prisutni (DEAR, 2014.), iako je u mnogim slučajevima prvenstveno uočen pooštren ili pojačan dišni šum (WORKMANN i sur., 2008.). Životinje s bakterijskom pneumonijom imaju izmješane inspiratorne i ekspiratorne znakove. Pri pojavi bakterijske pneumonije, bitno je pronaći temeljne faktore koji su predisponirali pacijenta infekciji (DEAR, 2014.). U slučajevima gljivičnih pneumonija, pluća uobičajeno sadrže difuzno rasprostranjene multiple, sive nodule raznih veličina, sa sličnim ispoljavanjem kliničkih simptoma kao u bakterijske pneumonije (CASWELL i WILLIAMS, 2007.).

## 2.7. DIJAGNOSTIKA ZARAZNIH BOLESTI DIŠNOG SUSTAVA

Klinička dijagnostika infektivnih uzročnika bolesti može biti problematična uzimajući u obzir da znakovi dišnog sustava mogu biti nespecifični, od blagog neproduktivnog kašlja do ozbiljne upale pluća povezane sa sistemskim promjenama čitavog organizma. Međutim, dijagnostika respiratornih bolesti je često još uvijek temeljena na anamnezi, kliničkim znakovima, radiografiji, citologiji i bakterijskoj kulturi (VIESON i sur., 2012.).

Dobivanje etiološke dijagnoze nosnih bolesti pasa ostaje izazov, jer više od 30% slučajeva nosnih bolesti ostaje nedijagnosticirano unatoč temeljitoj dijagnostici (MELER i sur., 2008.). Etiološka dijagnoza traheobronhitisa je rijetkost, budući da velik broj patogena često uzajamno djeluje ili se međusobno preklapa (VIESON i sur., 2012.), dok se dijagnoza bakterijske pneumonije oslanja na septičku upalu zajedno sa pozitivnom bakterijskom kulturom (DEAR, 2014.). Stoga, najčešća dijagnostička procedura temeljena je na prisutnosti kliničkih znakova respiratornog sustava. Klinički materijal pretražuje se općom bakteriološkom pretragom i pretragom na mikoplazme, a u slučajevima izraženog purulentog sekreta bilo bi uputno tražiti i pretragu na anaerobne bakterije (VIESON i sur., 2012.). Trenutno postoje brojni dijagnostički postupci za identifikaciju respiratornih uzročnika (WINDSOR i sur., 2006.). S vremenom je promijenjen način rada laboratorija - imunodijagnostičke metode za detekciju antigena i protutijela unaprijeđene su tehnološkim napretkom (EVERMANN i sur., 2012.), čime je omogućena brza identifikacija širokog raspona patogena i uspostava preciznije terapije (WINDSOR i sur., 2006.).

Mikroorganizmi koji sačinjavaju normalnu floru dišnog sustava, ograničeni su na najproksimalniji dio provodnog dijela dišnog sustava - nosna šupljina, ždrijelo i grkljan. Grudni dio dušnika, bronhi i pluća se u osnovi smatraju sterilnima (ZACHARY i MCGAVIN, 2018.). Osnovni podaci o pacijentu, poput kompletne krvne slike, biokemijskog profila i analize urina, mogu biti korisni pri procjeni općeg stanja pacijenta. Očekivati istu bakterijsku kulturu nosne šupljine i ždrijela u svake životinje nije moguća, ali se može predvidjeti prisutnost specifičnog raspona mikroflore (LEE FOWLER i REINERO, 2012.).

## 2.7.1. Bakteriološka pretraga

### 2.7.1.1. Uzimanje uzoraka

Rezultati mikrobioloških pretraga i njihova pouzdanost najizravnije ovise o pravilnom načinu uzorkovanja, postupanju s materijalom i pravodobnoj dostavi u odgovarajući mikrobiološki laboratorij. Materijal treba biti dovoljno reprezentativan i svjež, uzet pravilnom tehnikom i to s područja aktivne infekcije. Naknadna onečišćenja materijala mogu doprinijeti netočnim i neobjektivnim nalazima obavljenih mikrobioloških pretraga (HAJSIG i DELAŠ, 2015.). Kontaminacija uzorka komenzalnom florom treba se izbjegavati kako bismo pravilno interpretirali rezultate pretrage. Ključna je suradnja veterinar na klinici sa laboratorijem u koji se uzorak šalje na analizu, kako bi se osigurala kvaliteta dijagnostičkog procesa i jamčila prikladna terapija za pacijenta (JESSEN i sur., 2019.).

### 2.7.1.2. Vrste uzoraka za bakteriološku dijagnostiku

Za bakteriološku pretragu respiratornih bolesti u pasa mogu se koristiti uzorci dobiveni obriskom nosne sluznice, ždrijela ili ispirkom donjih dišnih prohoda (LEE FOWLER i REINERO, 2012.).

Obrisak nosne sluznice jedna je od metoda uzimanja uzoraka koja je neinvazivna i laka za izvedbu (HSU i sur., 2019.). Obrisci nosne šupljine, nazofarinska i ždrijela prikazuju prisutnost komenzalne mikroflore, koja je očekivana u tom dijelu dišnog sustava (FORD, 2012.). Dakle, prisutstvo bakterija u sluznicama gornjih dišnih prohoda nije potvrda primarne bakterijske infekcije (LEE FOWLER i REINERO, 2012.). BAL omogućava dobivanje materijala za bakteriološku pretragu donjih dišnih prohoda (LAPPIN i sur., 2017.), no za dobivanje ispiraka dišnih prohoda zahtijeva se korištenje kratkotrajne opće anestezije pri izvođenju, a životinju treba endotrahealno intubirati. Prednost je što zahtijeva minimalnu količinu opreme i tehnički je jednostavna za izvesti u pasa male i srednje veličine. Mane su mogućnost orofaringealne kontaminacije i nemogućnost vizualizacije dišnih prohoda tijekom izvođenja postupka (LEE FOWLER i REINERO, 2012.).

### 2.7.1.3. Interpretacija nalaza

Bakterijska kolonizacija mora se razlikovati od prisutstva bakterijske infekcije korištenjem citologije i kvantificiranjem bakterijskih kultura (LEE FOWLER i REINERO, 2012.). U situacijama u kojima pacijent ne odgovara na terapiju ili je iz bilokojeg razloga

imunosuprimiran, te također pri sumnji na snažnu infekciju dišnih prohoda, indicirano je napraviti bakteriološku pretragu (JESSEN i sur., 2019.). Bakteriološka pretraga češće se koristi kod bakterijskih infekcija donjih dišnih prohoda, gdje je izolacija specifičnog mikroorganizma i njegova antimikrobna osjetljivost ključna u izboru prikladne terapije (LEE FOWLER i REINERO, 2012.). U zdravih pasa, traheobronhalni dio dišnog sustava nije sterilan (LAPPIN i sur., 2017), a bakterijske kulture izolirane iz sekreta dišnih prohoda mogu dati lažno pozitivne rezultate (PEETERS, 2000.) kada predstavljaju pripadnike fiziološke mikroflore, a ne uzrok upalne reakcije (HAWKINS, 1995.). Nasuprot tomu, negativni rezultati bakterijske pretrage u pacijenata sa izraženim kliničkim znakovima mogu biti povezani s nedostatkom specifičnih metoda za dijagnostiku kod određenih vrsta poput mikoplazmi (RANDOLPH i sur., 1993.).

### 2.7.2. Citološka pretraga

Uzorci za citološku pretragu mogu biti dobiveni transtrahealnom aspiracijom, bronhoalveolarnim ispiranjem, te aspiracijom tankom iglom (FNA) (LEE FOWLER i REINERO, 2012.). Ispirke za citološku pretragu uputno je raditi kako bi se odredio tip upalne reakcije koja je prisutna u donjim dišnim prohodima (LAPPIN i sur., 2017.). BAL je metoda kojom se pretražuje specifični segment pluća koji je pokazao znakove kliničke bolesti tijekom radiološke dijagnostike (ZHU i sur., 2015.). Prednost citoloških preparata jest da se mogu trenutno analizirati, prije rezultata bakteriološke ili molekularne pretrage. Također, citološka pretraga uzorka BAL-a omogućava pouzdanu sumnju na prisutstvo bakterije *B. bronchiseptica*, koja je itekako značajna u patogenezi respiratornih bolesti pasa (CANONNE i sur., 2016.).

### 2.7.3. Histopatološka pretraga

Histopatologija se ne koristi često kao metoda za dijagnostiku bolesti donjih dišnih puteva s obzirom na postojanje potencijalnih komplikacija prilikom uzimanja uzoraka (DEBERRY i sur., 2002.), a same histološke promjene prilično su nespecifične (VIESON i sur., 2012.). Unatoč tomu, biopsije nosa često se izvode za identifikaciju patogena gornjih dišnih prohoda (WINDSOR i sur., 2006.). Biopsija pluća agresivna je tehnika, uzimajući u obzir mogućnost izvođenja citološke pretrage FNA-om ili analizu tekućine dobivene BAL-om. Obje navedene metode omogućavaju konačnu dijagnozu (LEE FOWLER i REINERO, 2012.).

#### 2.7.4. Radiografija

Pri sumnji na oboljenje dišnog sustava radiografija prsne šupljine koristi se kao jedna od metoda dijagnostike. Uputno je napraviti najmanje dvije projekcije – lateralnu i ventrodorzalnu ili dorzoventralnu. Preporuka je raditi obje lateralne projekcije kada je to moguće, kako bi se uočile lezije s obje strane dišnog sustava. U slučajevima akutnog ili kroničnog bronhitisa vidljiv je bronhijalni uzorak parenhima pluća, dok je u pacijenata s pneumonijom uočen intersticijski, alveolarni i miješani uzorak. Moguće je uočiti slobodnu tekućinu u prsnoj šupljini u obliku pojačanog zamućenja gustoće područja pluća, koja prekriva siluetu srca i povlači granice lobusa pluća od prsnog koša (LEE FOWLER i REINERO, 2012.).

#### 2.7.5. Molekularne metode

Razvojem novih dijagnostičkih tehnika i opsežnim korištenjem molekularne analize, povećan je opseg saznanja o epidemiologiji respiratornih virusa, molekularnoj osnovi njihove patogenosti i mehanizama koji potiču razvoj virusa (BUONAVOGLIA i MARTELLA, 2007.). Od bakterijskih uzročnika, za identifikaciju molekularnom metodom uglavnom se koristi lančana reakcija polimerazom (PCR), posebice za dokaz bakterije *Mycoplasma* spp. (LEE FOWLER i REINERO, 2012.), probirljivog organizma koji zahtijeva složen medij za uzgoj in vitro. Posljedično tomu, infekcije mikoplazmama u pasa često su neprimijećene s obzirom da rijetki laboratoriji rutinski pretražuju prisutnost mikoplazma, osim ako nije prethodno zatraženo od veterinaru (CHALKER, 2005.). Kada je zatražena dijagnostika mikoplazmoze u pasa sa znakovima dišnog sustava, organizmi se mogu uzgajati iz nosnih ili ždrijelnih briseva, no osjetljivija metoda za dokaz mikoplazmi je PCR (CHALKER i sur., 2004.). U obzir valja uzeti visoku osjetljivost PCR metode pri procjeni rezultata u sklopu cjelovite kliničke slike, kako bi se odredilo jesu li identificirani organizmi uopće povezani s kliničkim znakovima (LEE FOWLER i REINERO, 2012.). Brojni reemergenti patogeni povezani sa zaraznim traheobronhitisom pasa, uključujući CCoV, CPV i CIV, vrlo su vjerojatno bili prisutni i uzrokovali bolest u pasa i puno ranije, iako su tek nedavno detektirani zahvaljujući korištenju molekularnih metoda (PRIESTNALL i sur., 2014.).

## 2.7.6. Ostale metode dijagnostike

Osim radiografije, za dijagnostiku bolesti respiratornog sustava mogu se koristiti i ultrasonografija, kompjuterizirana tomografija i magnetska rezonanca (LEE FOWLER i REINERO, 2012.).

## 2.8. LIJEČENJE

### 2.8.1. Antimikrobna terapija

Površina tijela i sve sluznice životinje mogu biti kolonizirane bakterijama koje su dio fiziološke flore (LOVE i JONES, 2012.). Pozitivne rezultate bakteriološke pretrage, posebice bakterija koje se mogu izdvojiti i iz zdravih pasa, treba pažljivo interpretirati u skladu s ostalim dijagnostičkim nalazima kako bismo razlikovali bakterijsku infekciju od bakterijske kolonizacije (RHEINWALD i sur., 2015.).

Antibiotici su specifični proizvodi mikrobnog metabolizma koji imaju visoku fiziološku aktivnost prema određenim skupinama mikroba, sprječavajući im rast ili uništavajući ih (HAJSIG i DELAŠ, 2015.). Antimikrobni pripravci idealno bi trebali biti izabrani na temelju bakteriološke pretrage i rezultata antimikrobne osjetljivosti izdvojenih bakterija, iako je empirijski pristup često praktičniji (DEAR, 2014.).

Empirijska antibiotska terapija označava uporabu antibiotika bez saznanja o točnom uzročniku bolesti ili liječenje prije dobivanja rezultata o njegovoj osjetljivosti na antibiotike (DE MORAIS, 2009a.). Uputno je prikupiti dijagnostičke uzorke i odrediti prisutnu bakterijsku vrstu, kako bi se pacijent pravilno liječio (CHALKER i sur., 2012.; FOLEY i sur., 2002.). U slučajevima gdje bakterijska pretraga i osjetljivost ne mogu biti provedeni, a potrebno je dati početnu terapiju, izbor antimikrobnih pripravaka mora biti temeljen na empirijskim podacima bakterijske prevalencije i antimikrobne osjetljivosti (FORD, 2009.). Trebao bi se koristiti antibiotik s najužim spektrom djelovanja, odabran ne samo temeljem učinkovitosti protiv mikroorganizama, nego i s obzirom na sposobnost postizanja terapijske koncentracije na mjestu infekcije (DE MORAIS, 2009a.).

Neprikladna profilaktička ili dugotrajna antibiotska terapija u pasa može pridonijeti češćoj pojavnosti multirezistentnih (MDR) patogena (PEETERS i sur., 2000.). Dišni sustav može biti povezan sa primarnim ili sekundarnim bakterijskim infekcijama u pasa i čest je razlog za potencijalnu zlouporabu i pretjerano korištenje antibiotika (LAPPIN i sur., 2017.).



Ponavljanje terapije antimikrobnim pripravcima bez obraćanja pažnje na njen uzrok, može biti klinički beskorisno i povećati rizik od razvoja antimikrobne rezistencije bakterija. Riješavanje predisponirajućeg uzroka može ukloniti sekundarnu bakterijsku infekciju bez potrebe za korištenjem antimikrobnih sredstava. Antimikrobni preparaci jedna su najvažnijih opcija liječenja dostupnih u veterinarskoj i humanoj medicini, no, unatoč tomu, antimikrobna rezistencija je postepeno je ugrozila njihovu učinkovitost. Veterinari bi trebali uzeti u obzir utjecaj svakodnevnih odluka na dobrobit svojih pacijenata i društva u cjelini (WEESE i sur., 2015.).

### 2.8.2. Liječenje specifičnih bolesti dišnog sustava

Budući da su predisponirajući faktori rinitisa nepoznati, liječenje je ciljano na obuzdavanje nespecifičnih respiratornih simptoma i sekundarnih bakterijskih infekcija (VIESON i sur., 2012.). Liječenje ovisi o primarnom uzročniku i razlikuje se od operativnog zahvata kod tumorskih tvorbi, antibiotika za osteomijelitis, do antimikotika za rješavanje gljivičnih infekcija (CORCORAN, 2015.). Liječenje zaraznog traheobronhitisa je simptomatsko, no zbog česte pojave širokog spektra sekundarnih bakterijskih infekcija uputno je koristiti antibiotike kao primarni terapijski pristup (VIESON i sur., 2012.). Većina pasa s kliničkim znakovima zaraznog traheobronhitisa zadržava apetit i spontano ozdravi kroz desetak dana. U slučaje pojave mukopurulentnog iscjetka, povišene tjelesne temperature, letargije i/ili inapetence bez znakova pneumonije, preporuča se terapija doksiciklinom tijekom 7 do 10 dana (LAPPIN i sur., 2017.).

Liječenje bakterijske pneumonije razlikuje se ovisno o stupnju bolesti, ali pravilna uporaba antibiotika je neophodna. Za pse sa blagim oblikom bolesti, terapija je primjena antibiotika u trajanju od 3 do 6 tjedana, s tim da bi navedeno razdoblje trebalo uključivati desetak dana nakon što su se klinički znakovi bolesti povukli. Životinje s uznapredovalim stupnjem bolesti zahtijevaju intenzivniju njegu koja uključuje stacionarno liječenje i primjenu intravenske tekućinske terapije za održavanje hidracije organizma. Hidracija je ključna za olakšavanje čišćenja respiratornih izlučevina (DEAR, 2014.). Liječenje gljivične pneumonije uključuje korištenje azola - itrakonazol, ketokonazol i/ili amfotericina B (LEGENDRE i sur., 1996.; NELSON i SELTON, 2005.).

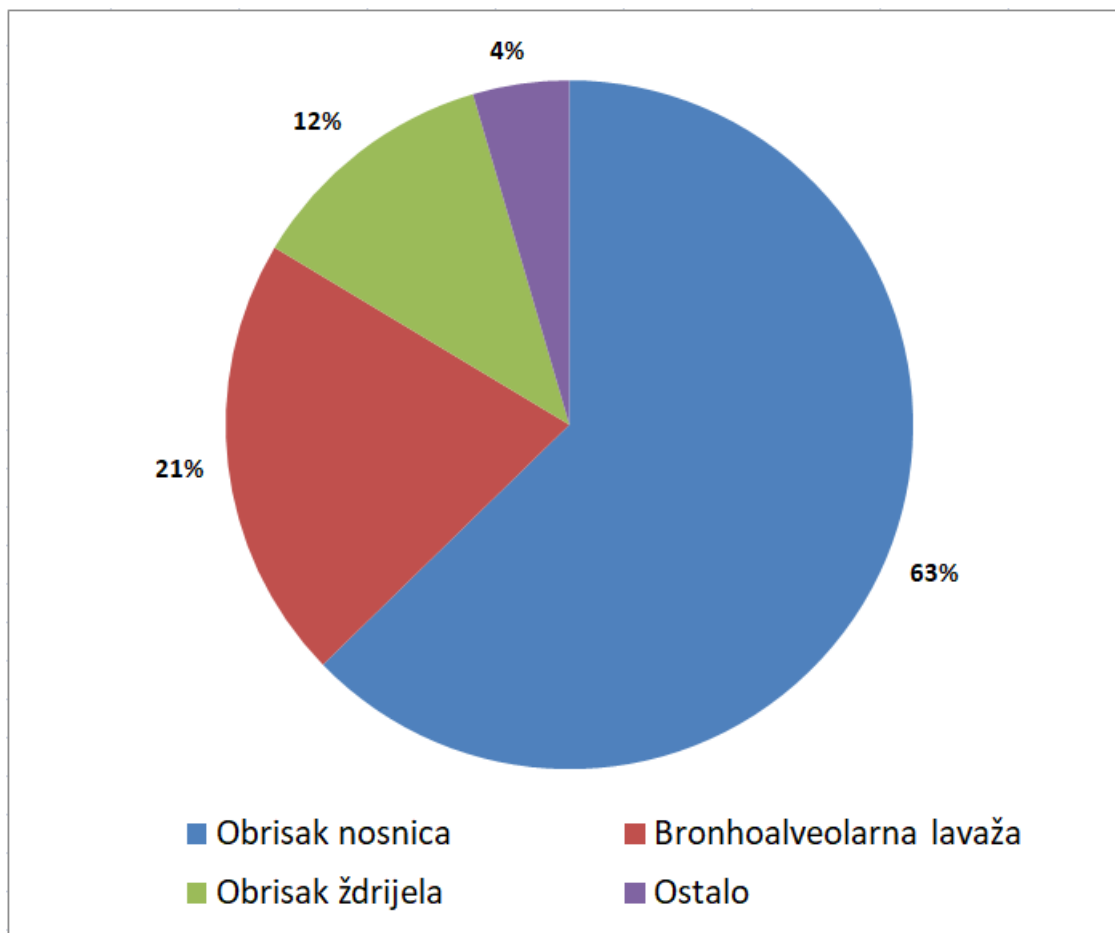
### 3. MATERIJALI I METODE

U ovom istraživanju prikupljeni su i obrađeni rezultati bakterioloških pretraga kliničkih uzoraka porijeklom iz pasa sa znakovima respiratorne bolesti. Dijagnostički uzorci uključivali su duboke obriske nosa, ždrijela, uzorke dobivene bronhoalveolarnom lavažom i ostale uzorke (meko nepce, dušnik, pluća). Uzorci su zaprimljeni i obrađivani u Laboratoriju za dijagnostiku bakterijskih bolesti konja Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, u četverogodišnjem razdoblju od 2015. do 2019. godine.

Uzorci su naciepljivani na hranjivi agar s dodatkom 5%-tne ovčje krvi. Ploče su potom inkubirane tijekom 24 sata pri 37 °C. U slučaju da su životinje u posljednjih tjedan dana dobivale antimikrobnu terapiju, ploče su inkubirane tijekom četiri dana. Po završetku inkubacije ploče su pregledane, zabilježena je čistoća bakterijskih kutura, čija je vrsta dalje identificirana na temelju kulturelnih, morfoloških i biokemijskih osobina. Prvo je uočen oblik, boja i veličina kolonija, zatim su preparati obojani po Gramu te je određen oblik i veličina bakterijske stanice i jesu li gram-pozitivne ili gram-negativne. Sukladno tim podacima, dalje su identificirane ispitivanjem različitih biokemijskih osobina poput tvorbe katalaze i oksidaze, sposobnosti fermentacije glukoze sa ili bez prisustva kisika, razgradnji laktoze, ureje, citrata, lizina, tvorbe plina, acetoina, sumporovodika, pokretljivosti, sposobnosti rasta u prisustvu žućnih soli i drugih. Nakon identifikacije vrste bakterija, učinjeno je određivanje antimikrobne osjetljivosti bakterija na antimikrobne tvari najčešće korištene za liječenje infekcija dišnog sustava pasa prema standardiziranom disk-difuzijskom postupku (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2020.).

#### 4. REZULTATI

Istraživanje je obuhvatilo rezultate bakteriološke pretrage 177 uzoraka porijeklom iz dišnog sustava pasa. Od ukupnog broja uzoraka, bilo je 111 (62,7%) obrisaka nosnica, 37 (20,9%) bronhoalveolarnih ispiraka, 21 (11,9%) obrisaka ždrijela i 8 (4,5%) ostalih uzoraka (meko nepce, dušnik, pluća). Udio pojedinih vrsti uzoraka prikazan je u Grafikonu 1.



**Grafikon 1.** – Podjela dijagnostičkih materijala prema vrsti uzorka

Od ukupno 177 uzoraka, iz 128 (72,3%) uzoraka izdvojena je čista ili mješovita bakterijska kultura, dok iz 49 (27,7%) uzoraka nisu izdvojene bakterije.

Najčešće izdvajane bakterije bile su: *Bordetella bronchiseptica* iz 36/177 (20,3%) uzoraka, *Staphylococcus psudintermedius* iz 35/177 (19,8%) uzoraka, *E.coli* iz 23/177 (13%) uzoraka te KN *Staphylococcus* spp. iz 14/177 (7,9%) uzoraka.

Od 128 pozitivnih uzoraka, iz 71 (55,5%) je izdvojena čista bakterijska kultura, dok su iz 57 (44,5%) uzoraka izdvojene mješovite kulture dvije ili više vrsta bakterija.

U čistoj kulturi izdvojene su sljedeće bakterijske vrste: *Bordetella bronchiseptica* izdvojena je iz 22/71 (31%) uzorka, *Staphylococcus pseudintermedius* iz 22/71 (31%) uzoraka, *E.coli* iz 11/71 (15,5%) uzoraka, te koagulaza negativan *Staphylococcus* spp. iz 9/71 (12,7%) uzoraka.

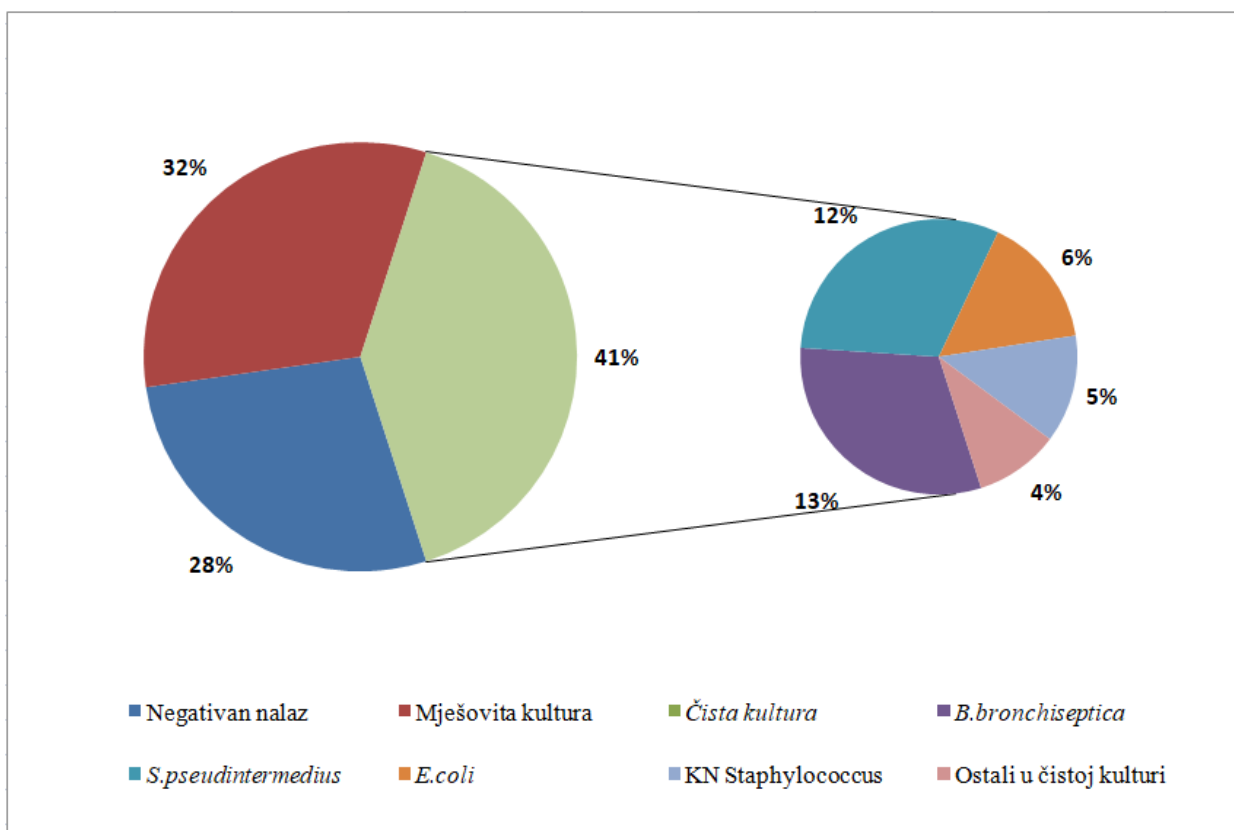
### **Rezultati bakterioloških pretraga podijeljeni prema izdvojenim vrstama bakterija**

Bakterija *Bordetella bronchiseptica* izdvojena je iz 36/177 (20,3%) ukupnog broja svih uzoraka, i to iz 32 uzorka obrisaka nosnica, dva uzorka bronhoalveolarne lavaže i dva obriska ždrijela. Od 36 izolata, 22 su izdvojena u čistoj, a 14 u mješovitoj bakterijskoj kulturi. U čistoj kulturi *B. bronchiseptica* izdvojena je iz 19 obrisaka nosnica, dva uzorka BAL-a i jednog obriska ždrijela. U mješovitoj kulturi izdvojena je iz 13 uzoraka obrisaka nosnica i jednog obriska ždrijela. Iz obrisaka nosnica je u osam slučajeva izdvojena uz bakteriju *E. coli*, u četiri slučaja uz *S. pseudintermedius*, iz jednog uz koagulaza negativan stafilokok, te iz jednog obriska ždrijela uz bakteriju *Pasteurella* sp.

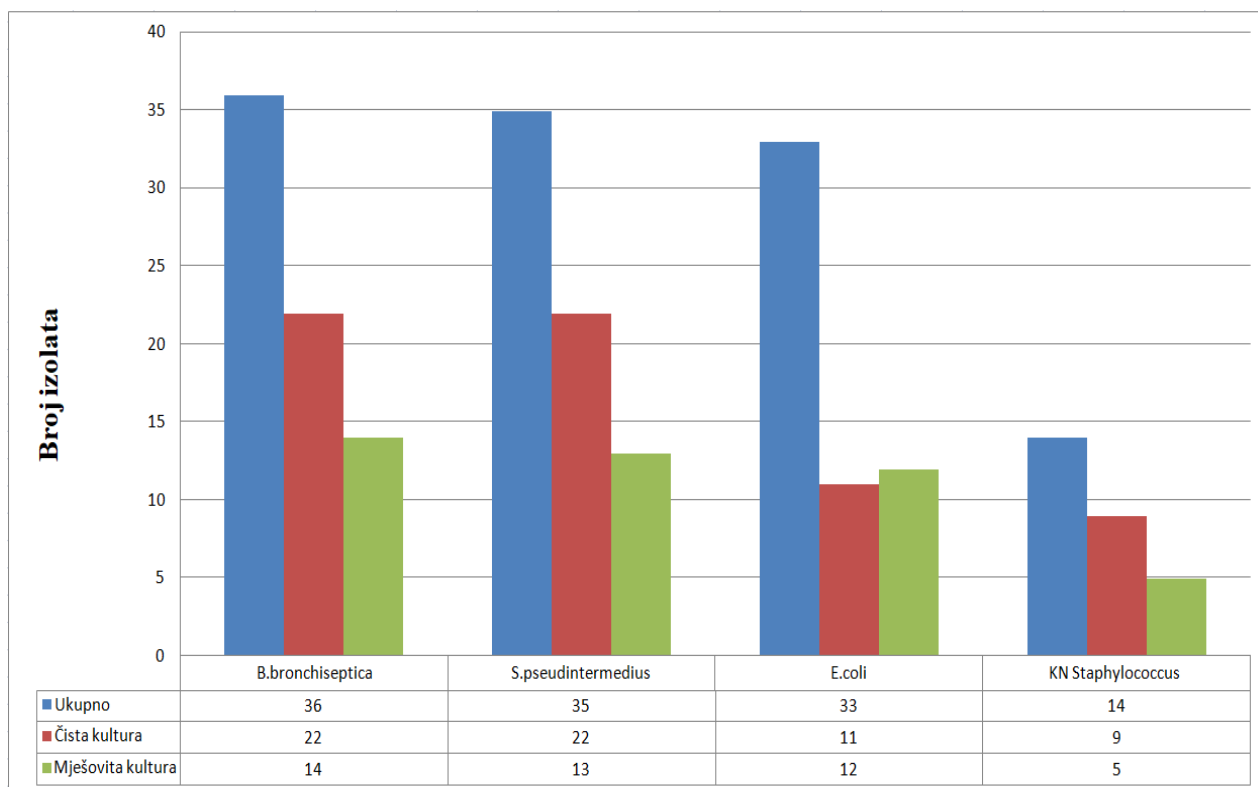
*S. pseudintermedius* izdvojen je iz ukupno 35/177 (19,8%) ukupnog broja uzoraka, i to iz 31 uzorka obrisaka nosnica, dva obriska ždrijela, jednog uzorka BAL-a i jednog obriska tvrdog nepca. Od 35 izolata, 22 su izdvojena u čistoj, a 13 u mješovitoj bakterijskoj kulturi, pri čemu je šest (17,1%) izolata bilo otporno na meticilin. U čistoj kulturi *S. pseudintermedius* izdvojen je iz 19 obrisaka nosnica, dva obriska ždrijela i jednog uzorka BAL-a. U mješovitoj kulturi izdvojen je iz 12 uzoraka obrisaka nosnica i jednog uzorka dobivenog brisom tvrdog nepca. U četiri slučaja izdvojen je uz bakteriju *B. bronchiseptica* i bakteriju *Pasteurella* sp., dok je u ostalih pet slučajeva izdvojen uz bakterije *Enterococcus* sp., *Klebsiella* sp., *Streptococcus* sp., *Proteus* sp. i koagulaza negativan stafilokok, pojedinačno.

Bakterija *E. coli* izdvojena je iz 23/177 (13%) ukupnog broja uzoraka, i to iz 20 uzoraka obrisaka nosnica, jednog uzorka BAL-a, jednog obriska ždrijela i jednog obriska plućnog parenhima. Od 23 izolata, 11 su izdvojena u čistoj, a 12 u mješovitoj bakterijskoj kulturi, a njih čak 14 (60,9%) je multirezistentno. U čistoj kulturi izdvojena je iz 9 obrisaka nosnica, jednog obriska ždrijela i pluća, pojedinačno. U mješovitoj kulturi izdvojena je iz osam uzoraka obrisaka nosnica uz bakteriju *B. bronchiseptica*, u dva slučaja iz obrisaka nosnica uz koagulaza negativne stafilokoke, te jednom uz obriska nosnice uz bakteriju *Bacillus* sp. i iz BAL-a zajedno sa *Streptococcus* sp., pojedinačno.

KN *Staphylococcus* sp. izdvojen je iz 14/177 (8%) uzoraka, i to iz 12 uzoraka obrisaka nosnica, jednog uzorka BAL-a i jednog obriska mekog nepca. Od 14 izolata, devet je izdvojeno u čistoj, a pet u mješovitoj bakterijskoj kulturi. U čistoj kulturi koagulaza negativni stafilokoki izdvojeni su iz sedam obrisaka nosnica, jednog uzorka BAL-a i jednog obriska mekog nepca. U mješovitoj kulturi izdvojen je isključivo iz uzoraka obrisaka nosnica, u jednom slučaju uz bakteriju *B. bronchiseptica*, beta hemolitični *Streptococcus* sp., *S. pseudintermedius*, *E. coli* i multirezistentnu *E.coli*, pojedinačno.



**Grafikon 2.** – Rezultati bakteriološke pretrage



**Grafikon 3.** – Prikaz broja izolata izdvojenih u čistoj i mješovitoj bakterijskoj kulturi

### Rezultati bakterioloških pretraga podijeljeni prema vrsti uzorka

Od 111 uzoraka obrisaka nosnica, 94 (84,7%) je bilo bakteriološki pozitivno, a iz 17 (15,3%) uzoraka nisu izdvojene bakterije. Iz pozitivnih uzoraka u 58/94 (61,7%) slučajeva bakterije su izdvojene u čistoj kulturi i to u 19 slučajeva *B. bronchiseptica*, u 19 slučajeva *S. pseudintermedius* (od čega tri MRSP), u devet slučajeva *E. coli*, u sedam slučajeva koagulaza negativni stafilocoki, u dva slučaja *Pasteurella* sp., te u jednom slučaju *Acinetobacter* sp i beta-hemolitični *Streptococcus* spp., pojedinačno.

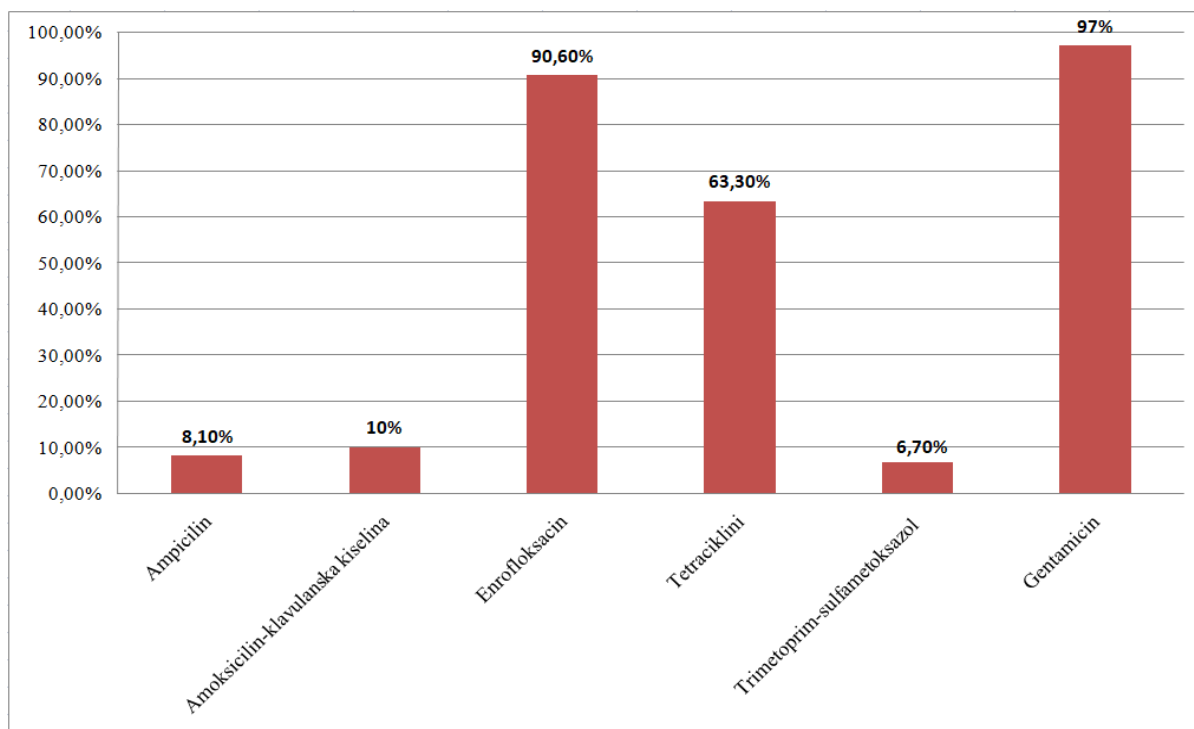
Iz ukupnog broja pozitivnih uzoraka obrisaka nosnica, u 36/94 (38,3%) slučajeva izdvojene su mješovite kulture. U 13/36 (36,1%) slučajeva izdvajanja mješovitih kultura, jedna od izdvojenih vrsta bila je bakterija *B. bronchiseptica*, izdvojena uz *E. coli*, *S. pseudintermedius* ili koagulaza negativne stafilokoke. U ostalih 23/36 (63,9%) slučajeva izdvajanja mješovitih kultura, izdvajane su različite kombinacije dvije ili tri od sljedećih vrsta bakterija: *E. coli*, koagulaza pozitivni i koagulaza negativni stafilocoki, *Pasteurella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* sp., *Bacillus* sp., *Corynebacterium* sp., *Klebsiella* sp., beta hemolitični *Streptococcus* sp. i *Enterococcus* sp.

Od 37 uzoraka BAL-a, njih devet (24,3%) je bilo bakteriološki pozitivno, od čega su iz pet uzoraka bakterije izdvojene u čistoj kulturi, a iz četiri uzorka u mješovitoj kulturi. U čistoj kulturi iz dva uzorka izdvojena je bakterija *B. bronchiseptica*, iz jednog *S. pseudintermedius*, beta hemolitični *Streptococcus* sp. i koagulaza negativan *Staphylococcus* sp., pojedinačno. Iz jednog uzorka mješovite bakterijske kulture izdvojena je kombinacija bakterija *E. coli* i *Streptococcus* sp., alfa-hemolitičnog streptokoka i *Pasteurella* sp.; odnosno *Klebsiella* sp. i *Pseudomonas aeruginosa*. Iz jednog uzorka izdvojena je mješovita kultura više od tri bakterijske vrste, što se smatra kontaminacijom uzorka. Niti jedna od vrsta izdvojenih u mješovitoj kulturi BAL-a nije bila *B. bronchiseptica*, u kojem slučaju bi se nalaz smatrao značajnim.

Od ukupno 21 uzorka obrisaka ždrijela, njih 20 (95,2%) je bilo bakteriološki pozitivno. Iz 6/20 (30%) uzoraka izdvojene su bakterije u čistoj kulturi i to: *B. bronchiseptica* u jednom slučaju, *S. pseudintermedius* u dva slučaja (od čega jedan MRSP), *Pasteurella* sp., *E.coli* i *Alcaligenes* sp., svaka u jednom slučaju. Iz 14/20 (70%) uzorka obrisaka ždrijela, izdvojene su mješovite kulture. Pri izdvajanju mješovitih kultura, jedna od izdvojenih vrsta bila je *B.bronchiseptica*, izdvojena zajedno s bakterijom *Pasteurella* sp., u jednom slučaju pronađena je bakterija *Pseudomonas aeruginosa* izdvojena zajedno sa *Proteus* sp., te beta-hemolitički *Streptococcus* sp. sa bakterijom *Klebsiella* sp. U dva slučaja dominantna je bila bakterija *Pasteurella* sp., a u preostalim slučajevima izdvajanja mješovitih kultura iz ždrijela, bilo je prisutno više od tri vrste bakterija, od kojih niti jedna nije bila *B. bronchiseptica*. U navedenim slučajevima porasle bakterije nisu dalje identificirane.

## Rezultati određivanja antimikrobne osjetljivosti bakterija

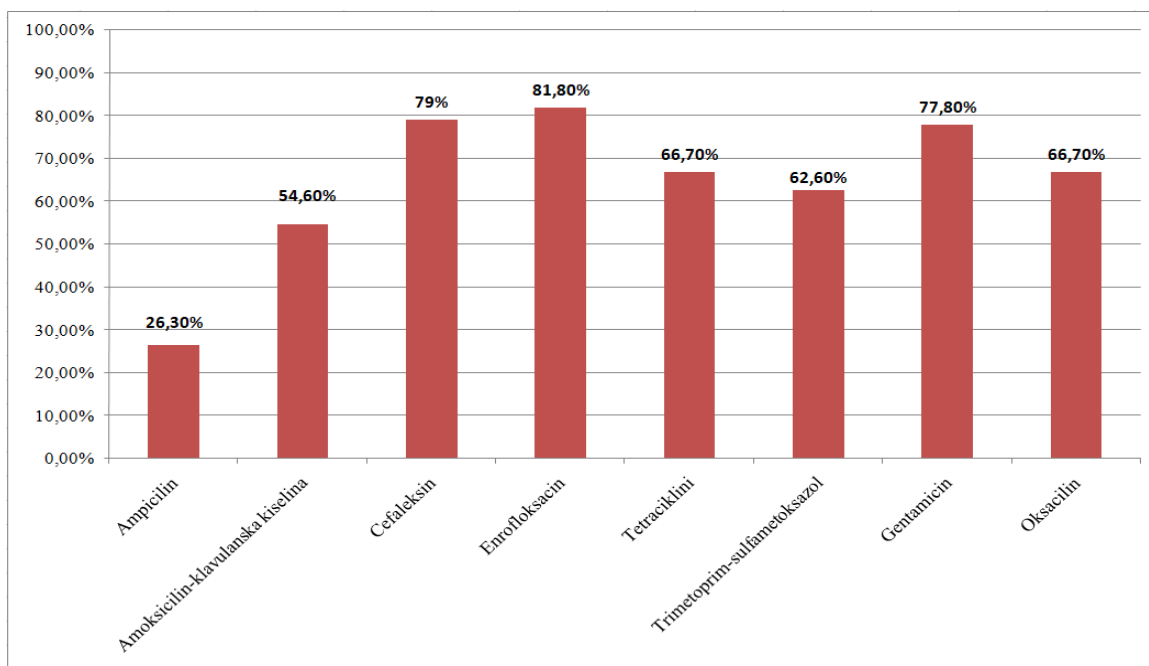
Izolatima bakterije *B.bronchiseptica* određena je osjetljivost na ampicilin, amoksicilin klavulansku kiselinu, enrofloksacin, tetraciklin, trimetoprim-sulfametoksazol i gentamicin. Na ampicilin je bilo osjetljivo 8,1% izolata, na amoksicilin-klavulansku kiselinu 10% izolata, na enrofloksacin 90,6% izolata, na tetraciklin 63,3% izolata, na trimetoprim-sulfametoksazol 6,7% izolata, a na gentamicin 97% izolata.



**Grafikon 4.** – Antimikrobna osjetljivost bakterije *B.bronchiseptica*

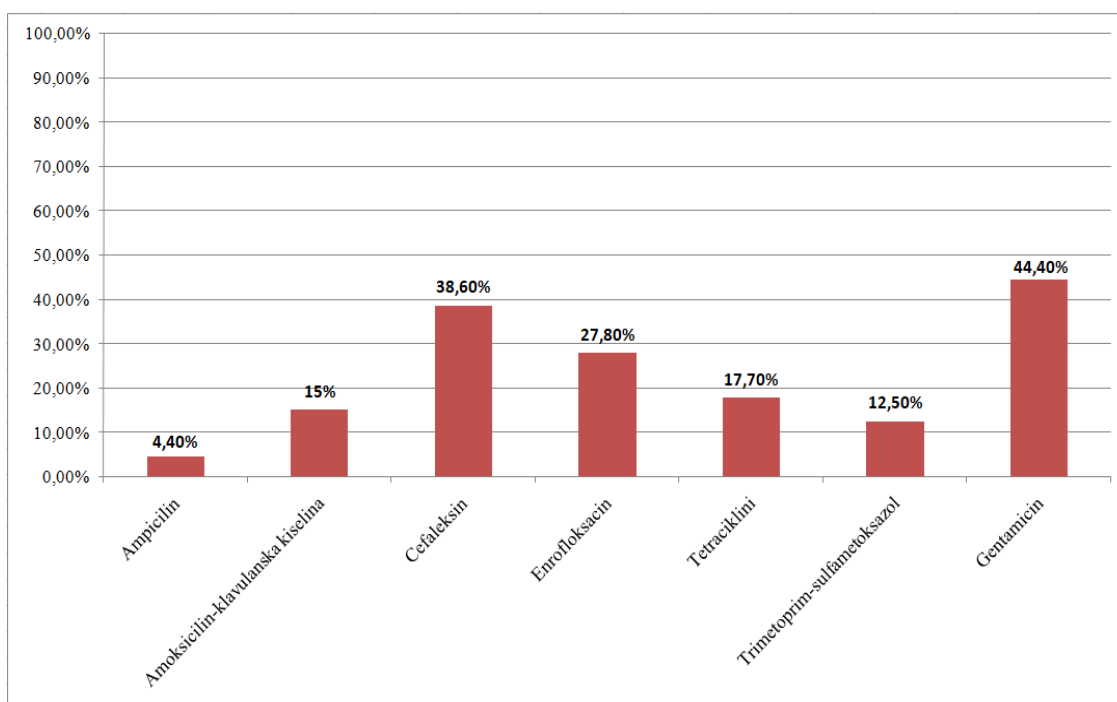
Izolatima bakterije *S.pseudintermedius* određena je osjetljivost na ampicilin, amoksicilin klavulansku kiselinu, cefaleksin, enrofloksacin, tetracikline, trimetoprim-sulfametoksazol, gentamicin i oksacilin. Na ampicilin je bilo osjetljivo 26,3% izolata, na amoksicilin-klavulansku kiselinu 54,6% izolata, na cefaleksin 79% izolata, na enrofloksacin 81,8% izolata, na tetraciklin 66,7% izolata, na trimetoprim- sulfametoksazol 62,6%, na gentamicin 77,8% izolata, a na oksacilin 66,7% izolata.





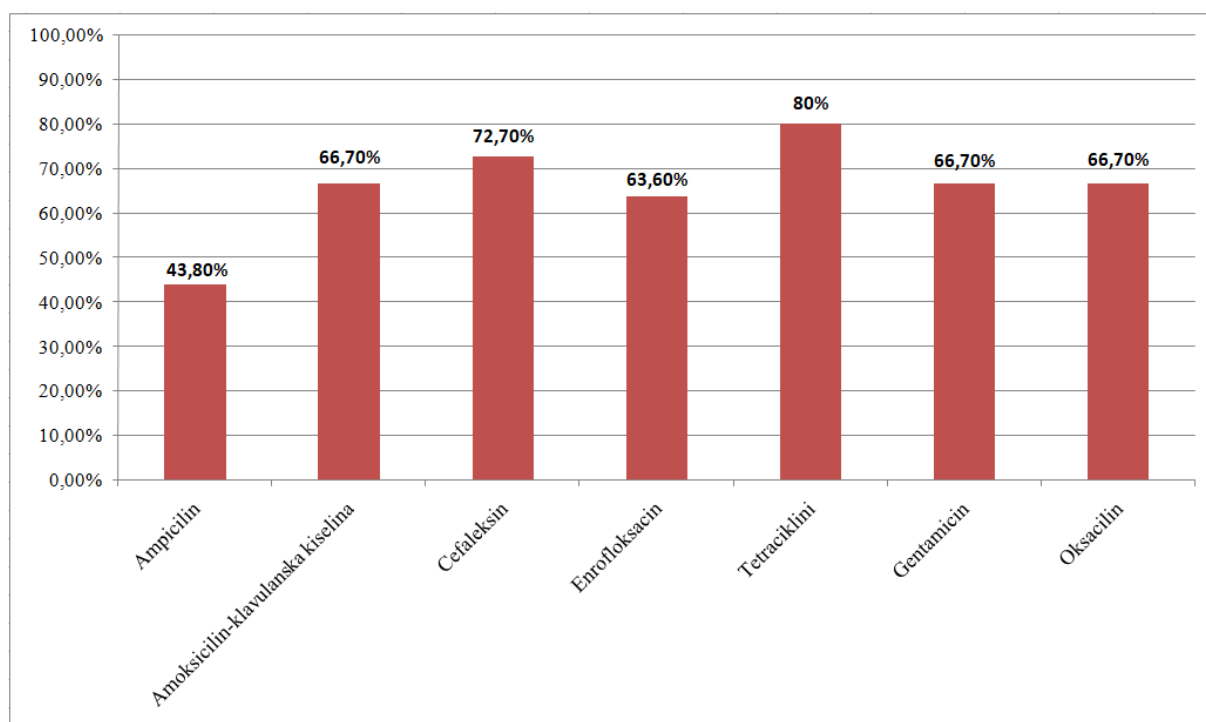
**Grafikon 5.** – Antimikrobna osjetljivost bakterije *S.pseudintermedius*

Izolatima bakterije *E.coli* određena je osjetljivost na ampicilin, amoksicilin-klavulansku kiselinu, cefaleksin, enrofloksacin, tetracikline, trimetoprim-sulfametoksazol i gentamicin. Na ampicilin je bilo osjetljivo 4,4% izolata, na amoksicilin-klavulansku kiselinu 15% izolata, na cefaleksin 38,6% izolata, na enrofloksacin 27,8% izolata, na tetracikline 17,7% izolata, na trimetoprim- sulfametoksazol 12,5% izolata, a na gentamicin 44,4% izolata.



**Grafikon 6.** – Antimikrobna osjetljivost bakterije *E.coli*

Izolatima bakterije KN *Staphylococcus* sp. određena je osjetljivost na ampicilin, amoksicilin klavulansku kiselinu, cefaleksin, enrofloksacin, tetracikline, gentamicin i oksacilin. Na ampicilin je bilo osjetljivo 43,8% izolata, na amoksicilin-klavulansku kiselinu 66,7% izolata, na cefaleksin 72,7% izolata, na enrofloksacin 63,6% izolata, na tetracikline 80% izolata, na gentamicin i oksacilin 66,7% izolata.



**Grafikon 7.** – Antimikrobna osjetljivost bakterije *KN Staphylococcus* sp.

## 5.RASPRAVA

U dosadašnjim istraživanjima, najčešće izolirane bakterije u pasa s bolestima dišnog sustava su *B. bronchiseptica* (22-49%), *Mycoplasma* spp. (30-70%), *Streptococcus* spp. (6-20%), *Staphylococcus* spp. (14-19%), *Pasteurella* spp. (3-21%), no često su izolirane i bakterije iz porodice *Enterobacteriaceae* (do 30%) (RADHAKRISHAN i sur., 2007.; JOHNSON i sur., 2013.; JAMESON i sur., 1995.; RHEINWALD i sur., 2015.; MELER i sur., 2008.; VIITANEN i sur., 2015.).

U našem istraživanju *B. bronchiseptica* najčešće je izdvojena bakterija, iz ukupno 36/177 (20,3%) uzoraka što odgovara rezultatima drugih istraživanja koji su bakteriju *B. bronchiseptica* svrstali među najčešće dokazane bakterije (LAVAN i KNESL, 2015.; VIITANEN i sur., 2015.; SCHULZ i sur., 2014.; CANNONE i sur., 2016.).

*S. pseudintermedius*, druga najčešće izdvojena bakterija u ovom istraživanju, izdvojena je iz 35/177 (19,8%) uzoraka, što se podudara s istraživanjima koja su bakterije roda *Staphylococcus* također svrstali u najučestalije bakterije izdvojene iz respiratornog sustava pasa (RHEINWALD i sur., 2015.; CASWELL i WILLIAMS, 2007.).

Bakterija *E. coli* u ovom istraživanju izdvojena je iz 23/177 (13%) što korelira s istraživanjem Rheinwald-a i sur., koji su iz 10% uzoraka porijeklom iz dišnog sustava pasa također izolirali *E. coli*. Treba imati na umu da *E. coli* može biti uzročnik infekcije, no isto tako često može biti izdvojena kao posljedica kontaminacije uzorka, posebice kada se radi o obriscima nosnica i ždrijela. Nalaz stoga treba pažljivo tumačiti uzimajući u obzir kliničko stanje životinje, lokalizaciju infekcije, nalaze drugih pretraga i vrstu uzorka iz kojeg je *E. coli* izdvojena. U slučaju izdvajanja *E. coli* u mješovitoj kulturi, nalaz svakako treba tumačiti i obzirom na vrstu bakterija koje su izdvojene uz nju, posebice ako se radi o bakteriji *B. bronchiseptica*, čije se izdvajanje uvijek smatra značajnim. Isto tako, nalaz *E. coli* ne treba zanemariti u slučaju da je višestruko otporna na antimikrobne tvari jer osim što ih je teško liječiti, životinje inficirane MDR bakterijama predstavljaju rizik za druge životinje i ljude.

Iz 14/177 (8%) uzoraka izdvojen je KN *Staphylococcus* sp., koji se najčešće smatraju komenzalnim mikroorganizmima na sluznici respiratornog sustava pasa, no poznato je da mogu biti i uzročnici infekcija. Pri izdvajanju ovih bakterija, nalaz također treba oprezno tumačiti uzevši u obzir kliničku sliku, vrstu uzorka iz kojeg je KN *Staphylococcus* izdvojen, te čistoću i gustoću rasta. Ukoliko je primjerice izdvojen u čistoj kulturi iz BAL-a, nalaz ne treba zanemariti. U slučaju izdvajanja u mješovitoj kulturi, bitno je identificirati vrstu drugih bakterija koje bi mogle imati veći klinički značaj.

U ovom istraživanju 72,3% uzoraka bilo je bakteriološki pozitivno. Postotak uzoraka iz kojih su dokazane bakterije veći je nego u drugim istraživanjima (JAMESON i sur., 1995.; VIITANEN i sur., 2015.; RHEINWALD i sur., 2015.; FASTRES i sur., 2020.; PEETERS i sur., 2000.), što se može objasniti velikim udjelom uzoraka dobivenih iz gornjih dišnih prohoda, tj. obriscima nosnica i ždrijela (74,6%).

Istraživanja populacije pasa sa kliničkim znakovima bolesti respiratornog sustava, u 48% (PEETERS i sur., 2000.) 49% (JAMESON i sur., 1995.), 55% (VIITANEN, i sur., 2015.), 60% (FASTRES i sur., 2020.) i 65% (RHEINWALD i sur., 2015.) slučajeva pokazalo je pozitivan rezultat bakteriološke pretrage. Ovu razliku može se objasniti različitom strukturom udjela vrsta uzoraka podrijetlom iz respiratornog sustava. Primjerice, ukoliko veći udio uzoraka predstavljaju obrisci nosnica i ždrijela, za očekivati je da će postotak pozitivnih nalaza biti veći, iz razloga što ta mjesta često sadrže bakterije podrijetlom iz okoline ili različite komenzalne vrste. Udio pozitivnih uzoraka zasigurno ovisi o načinu pretraživanja, odnosno o korištenoj metodi. Primjerice, ukoliko se rabi PCR metoda koja je vrlo osjetljiva, tada će i udio pozitivnih uzoraka biti veći. No ona je primjenjiva samo ukoliko se pretražuje na pojedini patogen. Istraživanja u kojima su analizirani nalazi bakterioloških pretraga uzoraka porijeklom isključivo iz donjih dišnih prohoda, primjerice BAL-a, očekivano će imati manji udio pozitivnih nalaza.

U ovom istraživanju bakterije su iz 55,5% uzoraka izdvojene u čistoj kulturi, a iz 45,5% slučajeva u mješovitoj kulturi, što odgovara istraživanjima drugih autora koji opisuju izdvajanje bakterija u čistoj kulturi u 48-65% slučajeva (PEETERS i sur., 2000.; RHEINWALD i sur., 2015.).

*B. bronchiseptica* kao najčešće izdvojena bakterija u ovom istraživanju izolirana je iz 28,1% pozitivnih uzoraka, dok je u istraživanjima drugih autora dokazana u 41-79% od ukupnog broja pozitivnih uzoraka (LAVAN i KNESL, 2015.; CHALKER i sur., 2003.; SCHULZ i sur., 2014.). Veći postotak dokazivanja bakterije *B. bronchiseptica* u istraživanjima (LAVAN i KNESL, 2015. i SCHULZ i sur., 2014.) može se objasniti korištenjem PCR-a za njenu detekciju, koja je značajno osjetljivija metoda. Chalker i sur., 2003. pretraživali su zatvorenu populaciju pasa koji su živjeli u istom skloništu, što omogućuje brzo širenje respiratornih infekcija, zbog čega je udio pozitivnih uzoraka očekivano velik.

U našem istraživanju *B. bronchiseptica* također je najčešća bakterija izdvojena u čistoj kulturi (31%). Iz uzoraka porijeklom iz respiratornog sustava *B. bronchiseptica* izdvojena je u 8-39% slučajeva u čistoj kulturi (RHEINWALD i sur., 2015.; VIITANEN i sur., 2015.). Prilikom izdvajanja više vrsta bakterija iz mješovitih uzoraka, nalaz se često ne smatra klinički značajnim, osim ako je ijedna od izoliranih bakterija *B. bronchiseptica*, čiji se nalaz uvijek smatra značajnim.

*B. bronchiseptica* molekularnim metodama može se dokazati i u zdravih pasa, što su potvrdili Lavan i Knesl u 20% istraživanih pasa u skloništu, te Schulz i sur., u 46% pasa. Nalaz bakterije *B. bronchiseptica* u velikoj većini slučajeva je značajan, a visok postotak zdravih pasa kojima je dokazano njeno prisutstvo može se objasniti bliskim kontaktom i visokom gustoćom naseljenosti pasa u skloništu. Također, metoda pretraživanja uzoraka u navedenim istraživanjima bila je uz pomoć PCR-a, koji ima iznimno visoku razinu osjetljivosti.

S obzirom da su vrste iz roda *Staphylococcus* u našem istraživanju podijeljene na KP i KN stafilokoke, *S. pseudintermedius* izdvojen je iz 27,3% pozitivnih uzoraka, a KN *Staphylococcus* sp. iz 10,9% pozitivnih uzoraka. Bakterije iz roda *Staphylococcus* izolirane su u našem istraživanju u 38,2% pozitivnih uzoraka, čime je postotak veći nego u istraživanju Rheinwald-a i sur., koji su ih izolirali iz 19% pozitivnih uzoraka (RHEINWALD i sur., 2015.).

U ovom istraživanju bakterija *E.coli* izdvojena je iz 18% pozitivnih uzoraka, od čega u 15,5% slučajeva u čistoj bakterijskoj kulturi, što odgovara rezultatima istraživanja iz 2015.godine, u kojem su izolati bakterije *E.coli* pronađeni su u 15% pasa u čistoj kulturi (RHEINWALD i sur., 2015.). Uobičajeno je koliformne bakterije smatrati kontaminantima dijagnostičkih uzoraka, no u ovom slučaju bitno je prepoznati izdvajanje MDR *E.coli* kao izazov u odabiru pravilne i svrsihodne terapije. Istovremeno, psi s izdvojenom MDR *E.coli* predstavljaju potencijalni rizik za druge životinje kao i za vlasnike, s obzirom na njihov zoonotski potencijal.

Kod upale donjih dišnih prohoda u pasa gdje je nerijetko uzročnik upravo *B.bronchiseptica*, ona se teško može izdvojiti iz uzorka gornjih dišnih prohoda tj. obriska nosnica. Velik broj izolata bakterije *B.bronchiseptica* u ovom istraživanju bio je izdvojen upravo iz obrisaka nosnica, što nas navodi na zaključak da je iznimno bitan pristup tumačenju pozitivnog nalaza. Obrisci nosnica se kao materijal za bakteriološku pretragu mogu uzimati u slučajevima pojave kliničkih znakova koji nas upućuju na patologiju dišnih prohoda, poput iscjetka iz nosa, kašlja i sl. Ukoliko se uzorkuju, nalaz treba pažljivo tumačiti i ne smatrati svaki pozitivan nalaz značajnim. Bakterije izdvojene iz obrisaka nosnica ili ždrijela mogu biti uzročnik bolesti, no mogu se izdvojiti i u slučaju subkliničke infekcije, kolonizacije ili rekonvalescentnog kliconoštva. Bez obzira na mogućnost izdvajanja komezala ili kontaminanata iz okoline, obrisci nosnica kao dijagnostički uzorak imaju svoju vrijednost u jednostavnosti prikupljanja uzoraka i neinvazivnosti takvog načina uzorkovanja. Navedeno nije odlika nekih drugih, možda pouzdanijih dijagnostičkih metoda prikupljanja uzoraka dišnog sustava u pasa.

U ovom istraživanju antimikrobna osjetljivost bakterije *B.bronchiseptica* dokazana je u samo 8,1% slučajeva na ampicilin, u 10% slučajeva na amoksicilin-klavulansku kiselinu, niti u jednom slučaju na cefaleksin tj. prvu generaciju cefalosporina, na enrofloksacin u 90,6% slučajeva, na tetracikline u 63,3% slučajeva, na trimetoprim-sulfametoksazol u samo 6,7% slučajeva, a na gentamicin u 97% slučajeva. Nalaz potpune otpornosti na cefaleksin očekivan je zbog urođene otpornosti ove bakterije prema cefalosporinima.

U prethodnim istraživanjima bakterija *B.bronchiseptica* bila je osjetljiva u 38,5% slučajeva na ampicilin (RHEINWALD i sur., 2015.), u 100% (RHEINWALD i sur., 2015.) i 69% slučajeva (CANNONE i sur., 2016.) na amoksicilin-klavulansku kiselinu, u 100% (CANNONE i sur., 2016.) i 91,3% slučajeva (RHEINWALD i sur., 2015.) na fluorokinolone, u 100% (RHEINWALD i sur., 2015.) i 77% slučajeva na tetracikline (CANNONE i sur.,

2016.), i u 100% (CANNONE i sur., 2016.) i 90,9% slučajeva na gentamicin (RHEINWALD i sur., 2015.).

Iz navedenog se vidi da su izolati bakterije *B.bronchiseptica* u ovom istraživanju pokazali veću otpornost prema antimikrobnim tvarima iz skupina penicilina i tetraciklina, koji najčešće predstavljaju empirijsku terapiju za liječenje respiratornih infekcija. Visoka osjetljivost prema enrofloksacinu ne bi trebala utjecati na odabir kinolona kao prvog izbora u liječenju. Visoki udio izolata osjetljivih na gentamicin ne pomaže u odabiru empirijske terapije, obzirom na nemogućnost peroralne primjene gentamicina i prateće nuzučinke.

U ovom istraživanju bakterije roda *Staphylococcus* podijeljene su na KP i KN vrste stafilokoka, čime je i antimikrobna osjetljivost zasebno obrađena za bakteriju *S.pseudintermedius* i za KN *Staphylococcus* sp.

Izolati bakterije *S.pseudintermedius* pokazali su osjetljivost u 26,3% slučajeva na ampicilin, u 54,6% slučajeva na amoksisicilin-klavulansku kiselinu, u 79% slučajeva na cefaleksin, u 81,8% slučajeva na enrofloksacin, u 66,7% slučajeva na tetracikline, u 62,6% slučajeva na trimetoprim-sulfametoksazol, u 77,8% slučajeva na gentamicin, te u 66,7% slučajeva na oksacilin.

Izolati bakterije KN *Staphylococcus* sp.osjetljivi su na ampicilin u 43,8% slučajeva, na amoksisicilin-klavulansku kiselinu u 66,7% slučajeva, na cefaleksin u 72,7% slučajeva, na enrofloksacin u 63,6% slučajeva, na tetracikline u 80% slučajeva, na gentamicin u 66,7% slučajeva te na oksacilin u 66,7% slučajeva.

Za usporedbu, u istraživanju antimikrobne osjetljivosti bakterija roda *Staphylococcus* sp. pokazale su osjetljivost u 50% slučajeva na ampicilin, u 91,7% slučajeva na amoksisicilin-klavulansku kiselinu, u 93,5% slučajeva na prvu generaciju cefalosporina, u 92,2% slučajeva na enrofloksacin, u 51,9% slučajeva na doksiciklin, u 86,8% slučajeva na gentamicin (RHEINWALD i sur., 2015.).

Osjetljivost izolata iz roda *Staphylococcus* prema antimikrobnim tvarima manja je nego što je zabilježeno u drugim istraživanjima. Ovakav nalaz bitna je posljedica toga što je većina uzoraka u ovom istraživanju potjecala od pasa sa Klinika Veterinarskog fakulteta, na kojima se učestalije zaprimaju životinje prethodno liječene u drugim veterinarskim ustanovama.

U ovom istraživanju, bakterija *E.coli* osjetljiva je u 4,4% na ampicilin , u 15% slučajeva na amoksicilin-klavulansku kiselinu, u 38,6% slučajeva na cefalosporine prve generacije, u 27,8% slučajeva na enrofloksacin, u 17,7% slučajeva na tetracikline, u 12,5% slučajeva na trimetoprim-sulfametoksazol, te u 44,4% slučajeva na gentamicin.

Istraživanje iz 2015. godine dokazalo je da je bakterija *E.coli* osjetljiva u 32,4% slučajeva na ampicilin, u 39,1% slučajeva na amoksicilin-klavulansku kiselinu, u 50% slučajeva na cefalosporin prve generacije, u 72,5% slučajeva na enrofloksacin, u 27,5% slučajeva na tetracikline, u 70% slučajeva na gentamicin (RHEINWALD i sur., 2015.).

Iz navedenog je vidljivo da je osjetljivost *E. coli* prema antimikrobnim tvarima u ovom istraživanju bitno manja nego u drugim istraživanjima. To je vjerojatno posljedica toga što su uzorci potjecali od prethodno liječenih životinja, no i toga što u nalaze nisu uvršteni svi izolati *E. coli*, nego samo oni višestruko otporni na antimikrobne pripravke ili iz nekog razloga smatrani značajnim (npr. iz pluća). Budući da je 60,9% *E.coli* u ovom istraživanju bilo multirezistentno, ukupni podatci o antimikrobnoj osjetljivosti očekivano prikazuju veću otpornost prema antimikrobnim tvarima.



## 6. ZAKLJUČCI

- *Bordetella bronchiseptica* najčešće je izdvojena bakterija u ovom istraživanju, što potvrđuje njen veliki značaj u nastanku respiratornih infekcija u pasa.
- *B. bronchiseptica* je u 88,9% slučajeva izdvojena iz obrisaka nosnica, što govori u prilog tome da su, suprotno uvriježenom mišljenju, duboki obrisci nosnica dobar dijagnostički materijal.
- Druga najčešće izdvojena bakterija bila je *S. pseudintermedius*, od kojih je trećina bila rezistentna na meticilin (MRSP), a treća najčešće izdvojena bakterija bila je *E. coli*, od kojih je 60,9% bilo otporno na tri ili više klasa antimikrobnih tvari (MDR).
- Rezultati ukazuju na to da ne treba uvijek zanemariti izdvajanje bakterijskih vrsta koje mogu predstavljati komenzale ili kontaminante uzorka, primjerice u slučaju njihove višestruke otpornosti prema antimikrobnim tvarima, jer se infekcije multirezistentnim bakterijama teško liječe, a inficirane životinje predstavljaju izvor infekcije za druge životinje i ljude.
- Osim u slučaju izdvajanja bakterije *B. bronchiseptica*, kliničku značajnost nalaza bakteriološke pretrage obrisaka nosnica ili ždrijela treba procijeniti na temelju izdvojene vrste bakterija, čistoće izdvojene bakterijske kulture, kliničkog stanja životinje, lokalizacije infekcije, nalaza drugih pretraga i antimikrobne osjetljivosti izdvojene bakterije.
- Rezultati određivanja antimikrobne osjetljivosti prikazani u ovom istraživanju ukazuju na to da je bez provođenja bakteriološke pretrage i određivanja osjetljivosti izdvojenih bakterija na antimikrobne tvari često teško odrediti ispravnu empirijsku terapiju respiratornih infekcija.

## 7. LITERATURA:

ANDERTON T.L., D.J. MASKELL, A. PRESTON (2004): Ciliostasis is a key early event during colonization of canine tracheal tissue by *Bordetella bronchiseptica*. *Microbiol.* 150, 2843–2855.

APPEL M., L.N. BINN (1987): Canine infectious tracheobronchitis. U: *Virus infections of carnivores.* (Appel M.J. ur.). Elsevier Science Publisher. Amsterdam. Str. 201–211.

BASTIAANSEN F.S., S.M.C. COWAN, M.J. CLAEISSON, T.G.DINAN, J.F.CRYAN (2019): Making Sense of ... the Microbiome in Psychiatry. *Intern. J. of Neuropsychopharm.* 22(1), 37–52.

BIHR T., G.A. CONBOY (1999): Lungworm (*Crenosoma vulpis*) infection in dogs on Prince Edward Island. *Can. Vet. J.* 40(8), 555–559.

BINN L.N., E.C. LAZAR, M. ROGUL, V.M.SHEPLER, L.J. SWANGO, T.CLAYPOOLE, D.W.HUBBARD, S.G.ASBILL, A.D. ALEXANDAR (1968): Upper respiratory disease in military dogs: bacterial mycoplasma and viral studies. *Am. J. Vet. Res.* 29, 1809–1815.

BINN L.N., J.P. ALFORD, R.H. MARCHWICKI, T.J. KEEFE, R.J.BEATTIE, H.G.WALL (1979): Studies of respiratory disease in random-source laboratory dogs: Viral infections in unconditioned dogs. *Lab. Anim. Sci.* 29, 48–52.

BOSCH A.A., G. BIESBROEK, K. TRZCINSKI, E.A.M. SANDERS, D.BOGAERT (2013): Viral and bacterial interactions in the upper respiratory tract. *Public library of Science Pathogens.* 9(1), e1003057.

BOWMAN D.D. (2003): *Georgis' Parasitology for Veterinarians*, 8.izd., Saunders Elsevier. St. Louis Missouri.

BRADY C.A. (2004): Bacterial pneumonia in dogs and cats. U: *Textbook of Respiratory Disease in Dogs and Cats.* (King L.G. ur.). Saunders Elsevier. St. Louis, Missouri. Str. 412–421.

BROWN S.P., D.M. CORNFORTH, N. MIDEO (2012): Evolution of virulence in opportunistic pathogens: generalism, plasticity, and control. *Trends Microbiol.* 20(7), 336–342.

- BROWNLEE L., R.K. SELTON (2001): Diagnosis of naturally occurring toxoplasmosis by bronchoalveolar lavage in a cat. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 37, 251–255.
- BUONAVOGLIA C., V. MARTELLA (2007): Canine respiratory viruses. *Vet. Res.* 38(2), 355–373.
- BYUN J.W., S.S. YOON, G.H. WOO, B.Y. JUNG, Y.S. JOO (2009): An outbreak of fatal hemorrhagic pneumonia caused by *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* in shelter dogs. *J. Vet. Sci.* 10(3), 269–271.
- CALERO-BERNAL R., M.S. GENNARI (2019): Clinical Toxoplasmosis in Dogs and Cats: An Update. *Front. Vet. Sci.* 6, 54.
- CANONNE A.M., F. BILLEN, C. TUAL, E. RAMERY, E. ROELS, I. PETERS, C. CLERCX (2016): Quantitative PCR and Cytology of Bronchoalveolar Lavage Fluid in Dogs with *Bordetella bronchiseptica* Infection. *J. Vet. Intern. Med.* 30, 1204–1209.
- CARMICHAEL L.E., R.A. SQUIRE, L. KROOK (1965): Clinical and pathologic features of a fatal viral disease of newborn pups. *Am. J. Vet. Res.* 26, 803–814.
- CARMICHAEL L.E., C.E. GREENE (1998): Canine herpesvirus infection. U: Infectious diseases of the dog and cat. (Greene C.E. ur.). WB Saunders Co. Philadelphia. Str. 28–32.
- CASTLEMAN W.L., J.R. POWE, P.C. CRAWFORD, E. P. J. GIBBS, E.J. DUBOVI, R.O. DONIS, D. HANSHAW (2010): Canine H3N8 influenza virus infection in dogs and mice. *Vet. Pathol.* 47(3), 507–517.
- CASWELL J.L., K.J. WILLIAMS (2007): Infectious diseases of the respiratory system. U: Jubb, Kennedy, and Palmer’s Pathology of Domestic Animals. (Maxie M.G. ur.). WB Saunders. Philadelphia. Str. 635–653.
- CHALKER V.J., H.W. BROOKS, J. BROWNLIE (2003)a: The association of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* with canine infectious respiratory disease. *Vet. Microbiol.* 95(1–2), 149–156.
- CHALKER V.J., C. TOOMEY, S. OPPERMAN, H.W. BROOKS, M.A. IBUOYE, J. BROWNLIE, A.N. RYCROFT (2003)b: Respiratory disease in kennelled dogs: Serological responses to *Bordetella bronchiseptica* lipopolysaccharide do not correlate with bacterial isolation or clinical respiratory symptoms. *Clin. and diagn. Lab. Immun.* 10, 352–356.

- CHALKER V.J., W.M. OWEN, C. PATERSON, E. BARKER, H. BROOKS, A.N. RYCROFT, J. BROWNLIE (2004): Mycoplasmas associated with canine infectious respiratory disease. *Microbiol.* 150, 3491–3497.
- CHALKER V.J. (2005): Canine mycoplasmas. *Res. Vet. Sci.* 79, 1–8.
- CHALKER V.J., A.WALLER, K.WEBB, E.SPEARING, P.CROSSE, J.BROWNLIE, K.ERLES (2012): Genetic diversity of *Streptococcus equi* subsp.*zooepidermicus* and doxycycline resistance in kennelled dogs. *J. Clin. Microbiol.* 50(6), 2134-2136.
- CHILVERS M.A., C. O'CALLAGHAN (2000): Local mucociliary defense mechanisms. *Pediatr. Resp. Rev.* 1(1), 27-34.
- CHVALA S., V. BENETKA, K. MOSTL, F. ZEUGSWETTER, J. SPERGSEER, H. WEISSENBOCK (2007): Simultaneous canine distemper virus, canine adenovirus type 2, and mycoplasma cynos infection in a dog with pneumonia. *Vet. Pathol.* 44(4), 508–512.
- CLERCX C., I. REICHLER, D. PEETERS, K. MCENTEE. A. GERMAN, J. DUBOIS, F. SCHYNTS, N. SCHAAF-LAFONTAINE, T. WILLEMS, M. JORISSEN, M.J. DAY (2003): Rhinitis/bronchopneumonia syndrome in Irish Wolfhounds. *J. of Vet. Int. Med.* 17, 843-849.
- COHN L.A., C.R. REINERO (2007): Respiratory defenses in health and disease. *Vet. Clin. Small Anim.* 37, 845–860.
- CONBOY G. (2009): Helminth parasites of the canine and feline respiratory tract. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 39(6), 1109–1126.
- COOKE K. (2005): Sneezing and nasal discharge. U: *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* (Ettinger S.J., Feldman E.C. ur.) Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. Str. 207–210.
- CORCORAN B. (2015): Acute Respiratory Infections of the Dog and Cat. *Proceedings of World Small Animal Veterinary Association World Congress, 15-18 svibanj, Bangkok, Tajland.*
- CRAWFORD P. (2000): What is your diagnosis? *Filaroides hirthi* infection. *J. Small Anim. Pract.* 41(95),133–134.

CRAWFORD P. C., E.J. DUBOVI, W.L. CASTLEMAN, I. STEPHENSON, E.P. GIBBS, L. CHEN, C. SMITH, R.C. HILL, P. FERRO, J. POMPEY, R.A. BRIGHT, M.J. MEDINA, C.M. JOHNSON, C.W. OLSEN, N.J. COX, A.I. KLIMOV, J.M. KATZ, R.O. DONIS (2005): Transmission of equine influenza virus to dogs. *Science*. 310, 482-485.

DAY M.J., M.C. HORZINEK, R.D. SCHULTZ (2010): World Small Animal Veterinary Association (WSAVA) guidelines for the vaccination of dogs and cats. *J. Small Anim. Pract.* 51(6), 1–32.

DAY M.J., M.C. HORZINEK, R.D. SCHULTZ, R.A. SQUIRES (2016): Guidelines for the vaccination of dogs and cats. *J. of Small Anim. Pract.* 57(1), 1-45.

DEAR J.D. (2014): Bacterial pneumonia in dogs and cats. *Vet. Clin. Small Anim.* 44(1), 143-159.

DEBERRY J.D., C.R. NORRIS, V.F. SAMII, S.M. GRIFFEY, F.S. ALMY (2002): Correlation between fine-needle aspiration cytopathology and histopathology of the lung in dogs and cats. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 38(4), 327–336.

DECARO N., C. DESARIO, G. ELIA, V. MARI, M.S. LUCENTE, P. CORDIOLI, M.L. COLAIANNI, V. MARTELLA, C. BUONAVOGLIA (2007): Serological and molecular evidence that canine respiratory coronavirus is circulating in Italy. *Vet. Microbiol.* 121, 225–230.

DECARO N., C. BUONAVOGLIA (2008): An update on canine coronaviruses: viral evolution and pathobiology. *Vet. Microbiol.* 132, 221–234.

DECARO N., V. MARI, M. CAMPOLO, A.LORUSSO, M.CAMERO, G.ELIA, V.MARTELLA, P.CORDIOLI, L.ENJUANES, C.BUONAVOGLIA (2009): Recombinant canine coronaviruses related to transmissible gastroenteritis virus of swine are circulating in dogs. *J. Virol.* 83, 1532–1537.

DECARO N., V. MARI, V. LAROCCA, M. LOSURDO, G. LANAVE, M.S. LUCENTE, M. CORRENTE, C. CATELLA, S. BO, G. ELIA, G. TORRE, E. GRANDOLFO, V. MARTELLA, C. BUONAVOGLIA (2016): Molecular surveillance of traditional and emerging pathogens associated with canine infectious respiratory disease. *Vet. Microbiol.* 192, 21-25.

- DE MORAIS H.A. (2009)a : Empiric Antibiotic Therapy. Proceedings of World Small Animal Veterinary Association World Congress, 21-24 srpanj, Sao Paolo, Brazil.
- DE MORAIS H.A. (2009)b : Respiratory Diseases in Old Dogs. Proceedings of World Small Animal Veterinary Association World Congress, 21-24 srpanj, Sao Paolo, Brazil.
- DIAL S.M. (2007): Fungal diagnostics:current techniques and future trends. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 37(2), 373–392.
- DUBOVI E.J. (2010): Canine influenza. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 40(6), 1063–1071.
- ELLIS J.A., M. HAINES, K.H. WEST, J.H. BURR, A. DAYTON, H.G. TOWNSEND, E.W. KANARA, C. KONOBY, A. CRICHLOW, K. MARTIN, G. HEADRICK (2001): Effect of vaccination on experimental infection with *Bordetella bronchiseptica* in dogs. J. of the Am. Vet. Med. Assoc. 218(3), 367-375.
- EMMERSON T. (2014): Brachycephalic obstructive airway syndrome: a growing problem. J. Small Anim. Pract. 55(11), 543-544.
- EPSTEIN S. (2015): Multidrug-Resistant Infections. U: Small Animal Critical Care Medicine. (Silverstein D.C. i Hopper K., ur.). Saunders. St.Louis, Missouri. Str. 537-540.
- ERLES K., C. TOOMEY, H.W. BROOKS, J.BROWNLIE (2003): Detection of a group 2 coronavirus in dogs with canine infectious respiratory disease. Virol. 310, 216–223.
- ERLES K., E.J. DUBOVI, H.W. BROOKS, J. BROWNLIE (2004): Longitudinal study of viruses associated with canine infectious respiratory disease. J. Clin. Microbiol. 42, 4524–4529.
- ERLES K., J. BROWNLIE (2005): Investigation into the causes of canine infectious respiratory disease: antibody responses to canine respiratory coronavirus and canine herpesvirus in two kenneled dog populations. Arch. Virol. 150, 1493–1504.
- ERLES K., J. BROWNLIE (2008): Canine respiratory coronavirus: an emerging pathogen in the canine infectious respiratory disease complex. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 38(4), 815–825.

ERLES K., J. BROWNLIE (2009): Sequence analysis of divergent canine coronavirus strains present in a UK dog population. *Virus Res.* 141, 21-25.

EVANS N.A., J.M. WALKER, A.C. MANCHESTER, J.F. BACH (2017): Acute respiratory distress syndrome and septic shock in a cat with disseminated toxoplasmosis. *J. Vet. Emerg. Crit. Care.* 27, 472–478.

EVERMANN J.F., R.K. SELTON, J.E. SYKES (2012): Laboratory diagnosis of viral and rickettsial infections and clinical epidemiology of infectious disease. U: *Infectious diseases of the dog and the cat.* (Greene C.E. ur.). Elsevier Saunders. St.Louis, Missouri. Str.1-8.

FASTRES A., M.A. CANONNE, B. TAMINIAU, F. BILLEN, M.M. GARIGLIANY, G. DAUBE, C. CLERCX (2020): Analysis of the lung microbiota in dogs with *Bordetella bronchiseptica* infection and correlation with culture and quantitative polymerase chain reaction. *Vet. Res.* 51 (1), 46.

FOLEY J.E., C. RAND, M.J. BANNASCH, C.R. NORRIS, J. MILAN (2002): Molecular epidemiology of feline bordetellosis in two animal shelters in California, USA. *Prev.Vet.Med.* 54(2), 141-156.

FORD R.B. (2009): Bacterial pneumonia. U: *Kirk's Current Veterinary Therapy.* (Bonagura J.D., Twedt D. C., ur.). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. Str. 658–662.

FORD R.B. (2012): Canine infectious respiratory disease. U: *Infectious diseases of the dog and the cat.* (Greene C.E., ur.). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. Str. 55-65.

GIBBS E.P., T.C. ANDERSON (2010): Equine and canine influenza: a review of current events. *Anim. Health Res. Rev.* 11(1), 43–51.

GOUGH A., A. THOMAS (2010): Irish Wolfhound. U: *Breed predispositions to disease in dogs and cats.* (Gough A., Thomas A., ur.). Blackwell Publishing Ltd. Oxford. United Kingdom. Str. 92-93.

GREENE C.E. (2006): Histoplasmosis. U: *Infectious Diseases of the Dog and Cat.* (Greene C.E., ur.). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. Str. 577–584.

GREENE C.E., F.W. CHANDLER, R.G. LOBETTI (2006): Pneumocystosis. U: *Infectious diseases of the dog and cat.* (Greene C.E., ur.). WB Saunders Co. Philadelphia. Str. 651.

GREENE C.E., C.N. REINERO (2006): Bacterial respiratory infections. U: Infectious diseases of the dog and the cat. (Greene C.E., ur.). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. Str. 866-882.

Hajsig D., F. Delaš (2015): Priručnik za vježbe iz opće mikrobiologije, 1.izd., Hrvatsko mikrobiološko društvo. Zagreb.

HAKANSSON A.P., C.J. ORIHUELA, D. BOGAERT (2018): Bacterial-Host Interactions: Physiology and Pathophysiology of Respiratory Infection. *Physiol. Rev.* 98(2), 781-811.

HAMENT J.M., J.L. KIMPEN, A. FLEER, T.F. WOLFS (1999): Respiratory viral infection predisposing for bacterial disease: A concise review. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 26, 189–195.

HAWKINS E.C. (1995): Diseases of the lower respiratory system. U: Textbook of Veterinary Internal Medicine. (Ettinger S.J., Feldman E.C., ur.). WB Saunders Co. Philadelphia. Str. 767–811.

HIRSH D.C., E.L. BIBERSTEIN (2004): Agents of systemic mycosis. U: Veterinary Microbiology. (Hirsh D.C., MacLachlan N.J., Walker R.L., ur.). Blackwell Publishing. Ames, Iowa. Str. 285–298.

HOLT D.E. (2004): Laryngeal paralysis. U: Textbook of respiratory disease in dogs and cats. (King L., ur.). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. Str. 319–328.

HOLT P.G. (2000): Antigen presentation in the lung. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 162(4), 151-156.

HOLLBROOK E.D, C.A. RAPPLEYE (2008): *Histoplasma capsulatum* pathogenesis: making a lifestyle switch. *Curr. Opin. Microbiol.* 11(4), 318–324.

HONG S., O. KIM (2012): Molecular identification of *Mycoplasma cynos* from laboratory beagle dogs with respiratory disease. *Lab. Anim. Res.* 28, 61–66.

HSU M.S., C.H. LIAO, C.T. FANG (2019): Role of nasal swab culture in guiding antimicrobial therapy for acute cellulitis in the era of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A prospective study of 89 patients. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 52(3), 494-497.



HUANG Y.J., S. NARIYA, J.M. HARRIS, S.V. LYNCH, D.F. CHOY, J.R. ARRON, H. BOUSHEY (2015): The airway microbiome in patients with severe asthma: associations with disease features and severity. *J. Allergy Clin. Immunol.* 136, 874–884.

JAMESON H.H., L.A. KING, M.R. LAPPIN, R.L. JONES (1995): Comparison of clinical signs, diagnostic findings, organisms isolated, and clinical outcome in dogs with bacterial pneumonia: 93 cases (1986–1991). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 45(1), 51-53.

JESSEN L.R., P.P. DAMBORG, A. SPOHR, T.M. SORENSEN, R. LANGHORN, S.K. GOERICKE-PESCH, G. HOUSER, J. WILLESEN, M. SCHJAERF, T. ERIKSEN, V.F. JENSEN, F. OBLING, L. GUARDABASSI (2019): Antibiotic Use Guidelines for Companion Animal Practice. The Danish Small Animal Veterinary Association. Frederiksberg, Copenhagen. Str. 25-29.

JOHNSON L.R., E.J. HERRGESELL, A.P. DAVIDSON, D. PAPPAGIANIS (2003): Clinical, clinicopathologic, and radiographic findings in dogs with coccidioidomycosis: 24 cases (1995–2000). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 222(4), 461–466.

JOHNSON L.R., E.V. QUEEN, W. VERNAU, J.E. SYKES, B.A. BYRNE (2013): Microbiologic and cytologic assessment of bronchoalveolar lavage fluid from dogs with lower respiratory tract infection: 105 cases (2001-2011). *J. Vet. Inter. Med.* 27(2), 259-267.

JOSEPH C., Y. TOGAWA, N. SHINDO (2013): Bacterial and viral infections associated with influenza. *Influenza Other Respir. Viruses.* 7(2), 105–113.

KIRCHNER B.K., C.D. PORT, T.J. MAGOC, M.A. SIDOR, Z. RUBEN (1990): Spontaneous bronchopneumonia in laboratory dogs infected with untyped *Mycoplasma* spp. *Lab. Anim. Sci.* 40, 625–627.

KOENIG H.E., H.G. LIEBICH (2009): Anatomija domaćih sisavaca, 1.izd., Naklada Slap. Jastrebarsko. Str. 377-400.

KOPPEN I., A. BOSCH, E. SANDERS, M.A. VAN HOUTEN, D. BOGAERT (2015): The respiratory microbiota during health and disease: a paediatric perspective. *PNEU.* 6, 90–100.

KOZARIĆ Z. (1997): Veterinarska histologija, 3.izd., Naklada Karolina d.o.o. Zagreb. Str. 175-183.

KRUTH S.A., S. CARMAN, J.S. WEESE (2008): Seroprevalence of antibodies to canine influenza virus in dogs in Ontario. *Can. Vet J.* 49(8), 800–802.

LAPPIN M.R., J. BLONDEAU, D. BOOTHE, E.B. BREITSCHWERDT, L. GUARDABASSI, D.H. LLOYD, M.G. PAPICH, S.C. RANKIN, J.E. SYKES, J. TURNIDGE, J.S. WEESE (2017): Antimicrobial use Guidelines for Treatment of Respiratory Tract Disease in Dogs and Cats: Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases. *J. Vet. Intern. Med.* 31, 279–294.

LAVAN R., O. KNESL (2015): Prevalence of canine infectious respiratory pathogens in asymptomatic dogs presented at US animal shelters. *J. Small Anim. Pract.* 56(9), 572-576.

LEE FOWLER T., C. REINERO (2012): Bacterial respiratory infections. U: *Infectious diseases of the dog and the cat.* (Greene C.E., ur.). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. Str. 936- 950.

LEGENDRE A.M., B.W. ROHRBACH, R.L. TOAL, M.G. RINALDI, L.L. GRACE, J.B. JONES (1996): Treatment of blastomycosis with itraconazole in 112 dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 10(6), 365–371.

LEGENDRE A.M. (2006): Blastomycosis. U: *Infectious Diseases of the Dog and Cat.* (Greene C.E., ur.). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. Str. 569–576.

LOBETTI R.G., A.L. LEISEWITZ, J.A. SPENCER (1996): Pneumocystis carinii in the miniature dachshund: case report and literature review. *J. Small Anim. Pract.* 37(6), 280–285.

LOBETTI R. (2006): Infectious Diseases of the Respiratory Tract. Proceeding of World Small Animal Veterinary Association World Congress, 27-31 kolovoz, Prag, Češka.

LOPES A., S.A. MARTINSON (2017): Respiratory system, mediastinum and pleurae. U: *Pathologic bases of veterinary disease.* (Zachary F.J., ur.). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. Str.471-560.

LORISON D.B.R., R.A.S. WHITE, R.M. BRIGHT (1997): Brachycephalic airway obstructive syndrome: a review of 118 cases. *Canine Pract.* 22, 18–21.

LOVE B.C., R.L. JONES (2012): Laboratory diagnosis of bacterial infections. U: Infectious diseases of the dog and the cat. (Greene C.E., ur.). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. Str. 277-283.

MABONI G., M. SEGUEL, A.D. LORTON, R. BERGHAUS, S. SANCHEZ (2019): Canine infectious respiratory disease: New insights into the etiology and epidemiology of associated pathogens. Public library of Science Pathogens. 14(4):e0215817.

MANNERING S.A., L. MCAULIFFE, J.R. LAWES, K. ERLES, J. BROWNLIE (2009): Strain typing of *Mycoplasma cynos* isolates from dogs with respiratory disease. Vet. Microbiol. 135(3-4), 292-296.

MASON C.M., S. NELSON (1992): Normal host defenses and impairments associated with the delayed resolution of pneumonia. Semin. respir. infect. 7(4), 243-255.

MATHEWS K.G., N.J. SHARP (2006): Canine nasal aspergillosis-penicillosis. U: Infectious Diseases of the Dog and Cat. (Greene C.E., ur.). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. Str. 613-620.

MCCANDLISH I.A., H. THOMPSON, H.J. CORNWELL, N.G. WRIGHT (1978): A study of dogs with kennel cough. The Vet. Record. 102(14), 293-301.

MELER E., M. DUNN, M. LECUYER (2008): A retrospective study of canine persistent nasal disease: 80 cases (1998-2003). Can.Vet. J. 49, 71-76.

MELLEMA M. (2004): Viral pneumonia. U: Textbook of respiratory disease in dogs and cats. (King L.G., ur.). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. Str. 431-45.

MITCHELL J.A., H.W. BROOKS, B. SZLADOVITS, K. ERLES, R. GIBBONS, S. SHIELDS, J. BROWNLIE (2013): Tropism and pathological findings associated with canine respiratory coronavirus (CRCoV). Vet.Microbiol. 162, 582-594.

MITCHELL J.A., J.M. CARDWELL, H. LEACH, C.A. WALKER, S. LE PODER, N. DECARO, M. RUSVAI, H. EGBERINK, P. ROTTIER, M. FERNANDEZ, E. FRAGKIADAKI, S. SHIELDS, J. BROWNLIE (2018): European surveillance of emerging pathogens associated with canine infectious respiratory disease. Vet.Microbiol. 212, 31-38.

MOCHIZUKI M., A. YACHI, T. OHSHIMA, A. OHUCHI, T. ISHIDA (2008): Etiologic study of upper respiratory infections of household dogs. J. Vet. Med. Sci. 70(6), 563-569.

- NAGLIĆ T., D. HAJSIG, J. MADIĆ, LJ. PINTER (2005): Veterinarska mikrobiologija – Specijalna bakteriologija i mikologija, 1. izd., Veterinarski fakultet Zagreb i Hrvatsko mikrobiološko društvo, Zagreb, Hrvatska.
- NELSON O.L., R.K. SELTON (2005): Pulmonary parenchymal disease. U: Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat. (Ettinger S.J., Feldman E.C., ur.). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. Str. 1239–1266.
- NORRIS C.R. (2004): Fungal pneumonia. U: Textbook of Respiratory Disease in Dogs and Cats. (King L.G., ur.). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. Str. 446–455.
- PEETERS D.E., B.C. MCKIERNAN, R.M. WEISIGER, D.J. SCHAEFFER, C. CLERCX (2000): Quantitative Bacterial Cultures and Cytological Examination of Bronchoalveolar Lavage Specimens in Dogs. J. Vet. Intern. Med. 14, 534–541.
- PEETERS D., C. CLERCX (2007): Update on canine sinonasal aspergillosis. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 37(5), 901–916.
- PELTOLA V.T., J.A. MCCULLERS (2004): Respiratory viruses predisposing to bacterial infections: Role of neuraminidase. Pediatr. Infect. Dis. J. 23, 87–97.
- PESAVENTO P. A., K.F. HURLEY, M.J. BANNASCH, S. ARTIUSHIN, J.F. TIMONEY (2008): A Clonal Outbreak of Acute Fatal Hemorrhagic Pneumonia in Intensively Housed (Shelter) Dogs Caused by *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. Vet. Pathol. 45(1), 51-53.
- PETERSON E.N., S.C. BARR, W.J. GOULD, K.A. BECK, D.D. BOWMAN (1993): Use of fenbendazole for treatment of *Crenosoma vulpis* infection in a dog. J. Am. Vet. Med. Assoc. 202(9), 1483–1484.
- PETROF B.J., A. PACK, A.M. KELLY, J. EBY, J.C. HENDRICKS (1994): Pharyngeal myopathy of loaded upper airway in dogs with sleep apnea. J. Appl. Physiol. 76, 1746–1752.
- PETROF B.J., J.C. HENDRICKS, A. PACK (1996): Does upper airway muscle injury trigger a vicious cycle in obstructive sleep apnea? A hypothesis. Sleep. 19, 465–471.
- PINCKNEY R.D., A.D. STUDER, R.M. GENTA (1988): *Filaroides hirthi* infection in two related dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 193(10), 1287–1288.

- PRIESTNALL S., K. ERLES (2011): *Streptococcus zooepidemicus*: an emerging canine pathogen. *Vet. J.* 188(2), 142–148.
- PRIESTNALL S.L., J.A. MITCHELL, C.A. WALKER, K. ERLES, J. BROWNLIE (2014): New and Emerging Pathogens in Canine Infectious Respiratory Disease. *Vet. Pathol.* 51(2), 492-504.
- RADHAKRISHNAN A., K.J. DROBATZ, W.T. CULP, L.G. KING (2007): Community-acquired infectious pneumonia in puppies: 65 cases (1993-2002). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 230(10), 1493-1497.
- RANDELL S.H., R.C. BOUCHER (2006): Effective mucus clearance is essential for respiratory health. *Am. J. Respir. Cel. Mol. Biol.* 35(1), 20-28.
- RANDOLPH J.F., N.S. MOISE, J.M. SCARLETT, S.J. SHIN, J.T. BLUE, J.R. CORBETT (1993): Prevalence of mycoplasmal and ureaplasma recovery from tracheobronchial lavages and of mycoplasmal recovery from pharyngeal swab specimens in dogs with or without pulmonary disease. *Am. J. Vet. Res.* 54, 387–391.
- REAGAN J.K., M.G. ARONSOHN (2012): Acute onset of dyspnea associated with *Oslerus osleri* infection in a dog. *J. Vet. Emerg. Crit. Care.* 22(2), 267-272.
- REILLY G.A., J.W. MCGARRY, M. MARTIN, C. BELFORD (2000): *Crenosoma vulpis*, the fox lungworm, in a dog in Ireland. *Vet. Rec.* 146(26), 764–765.
- RENSHAW R.W., N.C. ZYLICH, M.A. LAVERACK, A.L. GLASER, E.J. DUBOVI (2010): Pneumovirus in dogs with acute respiratory disease. *Emerg. Infect. Dis.* 16, 993–995.
- RENSHAW R., M. LAVERACK, N. ZYLICH, A. GLASER, E. DUBOVI (2011): Genomic analysis of a pneumovirus isolated from dogs with acute respiratory disease. *Vet. Microbiol.* 150, 88–95.
- RHEINWALD M., K. HARTMANN, M. HAHNER, G. WOLF, R.K. STRAUBINGER, B. SCHULZ (2015): Antibiotic susceptibility of bacterial isolates from 502 dogs with respiratory signs. *Vet. Rec.* 176, 357-383.
- RUBASH J.M. (1986): *Filaroides hirthi* infection in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 189(2), 213.

- SCHULZ B.S., S. KURZ, K. WEBER, H.J. BALZER, K. HARTMANN (2014): Detection of respiratory viruses and *Bordetella bronchiseptica* in dogs with acute respiratory tract infections. *The Vet.J.* 201(3), 365-369.
- SHAW D.H., G.A. CONBOY, P.M. HOGAN, B.S. HORNEY (1996): Eosinophilic bronchitis caused by *Crenosoma vulpis* infection in dogs. *Can. Vet. J.* 37(6), 361–363.
- SHERDING R.D. (2004): Parasites of the lung. U: *Textbook of Respiratory Disease in Dogs and Cats.* (King L.G., ur.). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. Str. 548–558.
- SHINYA K., A. MAKINO, Y. KAWAOKA (2010): Emerging and reemerging influenza virus infections. *Vet. Pathol.* 47(1), 53–57.
- SIEGEL S.J., J.N. WEISER (2015): Mechanisms of bacterial colonization of the respiratory tract. *Ann. Rev. Microbiol.* 69, 425–444.
- STEINFELD A., E. PRENGER-BERNINGHOFF, N. BAUER, R. WEIß, A. MORITZ (2012): Bacterial Susceptibility Testings of the Lower Airways of Diseased Dogs. *Tierärztliche Praxis Kleintiere.* 40(5), 309–317.
- TAHA- ABDELAZIZ K., L.L. BASSEL, M.L. HARNESS, M.E. CLARK, K.B. REGISTER, J.L. CASWELL (2016): Cilia-associated bacteria in fatal *Bordetella bronchiseptica* pneumonia of dogs and cats. *J. Vet. Diagn. Invest.* 28(4), 369-376.
- TASKER S., C.M. KNOTTENBELT, E.A. MUNRO, J. STONEHEWER, J.W. SIMPSON, A.J. MACKIN (1999): Etiology and diagnosis of persistent nasal disease in the dog: A retrospective study of 42 cases. *J. Small Anim. Pract.* 40, 473–478.
- TAUBENBERGER J.K., D.M. MORENS (2008): The pathology of influenza virus infections. *Annu Rev. Pathol.* 3, 499–522.
- THAM K.M., G.W. HORNER, R. HUNTER (1998): Isolation and identification of canine adenovirus type-2 from the upper respiratory tract of a dog. *N. Z. Vet. J.* 46, 102– 105.
- THAYER G., S. ROBINSON (1984): Bacterial bronchopneumonia in the dog—A review of 42 cases. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 20, 731– 735.
- THE EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING- EUCAST (2020): Antimicrobial susceptibility testing, EUCAST disk diffusion method, 8.izd.

[https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Disk\\_test\\_documents/2020\\_manuals/Manual\\_v\\_8.0\\_EUCAST\\_Disk\\_Test\\_2020.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/2020_manuals/Manual_v_8.0_EUCAST_Disk_Test_2020.pdf)

TIZARD I.R. (2004): *Veterinary immunology: an introduction*, 7.izd., WB Saunders. Philadelphia.

VAN PELT D.R., B.C. MCKIERNAN (1994): Pathogenesis and treatment of canine rhinitis. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 24, 789–806.

VIESON M.D., P. PINEYRO, T. LEROITH (2012): A review of the pathology and treatment of canine respiratory infections. *Vet. Med.* 3, 25–39.

VIITANEN S.J., A. LAPPALAINEN, M.M. RAJAMAKI (2015): Co-infections with Respiratory Viruses in Dogs with Bacterial Pneumonia. *J. Vet. Intern. Med.* 29, 544–551.

VIITANEN S.J., A.K. LAPPALAINEN, N.M. KOHO, T. PESA-MORIKAWA, L. RESSEL, M.M. RAJAMAKI (2019): Recurrent bacterial pneumonia in Irish Wolfhounds: Clinical findings and etiological studies. *Vet. Intern. Med.* 33(2), 846-855.

VON GARNIER C., L. FILGUEIRA, M. WIKSTROM, M. SMITH, J.A. THOMAS, D.H. STRICKLAND, P.G. HOLT, P.A. STUMBLES (2005): Anatomical location determines the distribution and function of dendritic cell and other APSs in the respiratory tract. *J. Immunol.* 175(3), 1609-1618.

WEESE J.S., S. GIGUERE, L. GUARDABASSI, P.S. MORLEY, M. PAPICH, D.R. RICCIUTO, J.E. SYKES (2015): ACVIM Consensus Statement on Therapeutic Antimicrobial Use in Animals and Antimicrobial Resistance. *J. Vet. Intern. Med.* 29, 487–498.

WELBORN L.V., J.G. DEVRIES, R. FORD, R.T. FRANKLIN, K.F. HURLEY, K.D. MCCLURE, M.A. PAUL, R.D. SCHULTZ (2011): American Animal Hospital Association (AAHA) canine vaccination guidelines. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 47(5), 1–42.

WILKINSON G. (1969): Some observations on the Irish Wolfhound Rhinitis syndrome. *J. of Small Anim. Pract.* 10, 5-8.

WILMOT R.W., G. KHURANA-HERSHEY, J.M. STARK (2000): Current concepts on pulmonary host defense mechanisms in children. *Curr. Opin. Pediatr.* 12(3), 187-193.

- WINDSOR R.C., L.R. JOHNSON, J.E. SYKES, T.L. DRAZENOVICH, C.M.  
LEUTENEGGER, H.C. DE COCK (2006): Molecular detection of microbes in nasal tissue of dogs with idiopathic lymphoplasmacytic rhinitis. *J. Vet. Intern. Med.* 20(2), 250–256.
- WORKMANN H.C., N.L. BAILIFF, S.J. SPENCER, J.G. ZINKL (2008): *Capnocytophaga cynodegmi* in a Rottweiler Dog with Severe Bronchitis and Foreign-Body Pneumonia. *J. of clin. microbiol.* 46(12), 4099–4103.
- XU B., N. WAGNER, L.N. PHAM, V. MAGNO, Z. SHAN, E.C. BUTCHER, S.A. MICHIE (2003): Lymphocyte homing to bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) is mediated by L-selectin/PNAd, alpha4beta1 integrin/VCAM-1 and LFA-1 adhesion pathways. *J. Exp. Med.* 197(10), 1255-1267.
- YAO C., D. O'TOOLE, M. DRISCOLL, W. MCFARLAND, J. FOX, T. CORNISH, W. JOLLEY (2011): *Filaroides osleri (Oslerus osleri)*: two case reports and a review of canid infections in North America. *Vet Parasitol.* 179(1–3), 123–129.
- ZAAS A.K., D.A. SCHWARTZ (2005): Innate immunity and the lung: defense at the interface between host and environment. *Trends Cardiovasc. Med.* 15(6), 195-202.
- ZACHARY F.J., M.D. MCGAVIN (2018): *Specijalna veterinarska patologija*, 4.izd., Elsevier, Stanek. Varaždin. Str.163-258.
- ZAPPULLI V., D. CALIARI, L. CAVICCHIOLI, A. TINELLI, M. CASTAGNARO (2008): Systemic fatal type II coronavirus infection in a dog: pathological findings and immunohistochemistry. *Res. Vet. Sci.* 84, 278–282.
- ZEUGSWETTER F., H. WEISSENBOCK, S. SHIBLY, J.HASSAN, J.SPERGSER (2007): Lethal bronchopneumonia caused by *Mycoplasma cynos* in a litter of golden retriever puppies. *Vet.Rec.* 161, 626–627.
- ZHU B.Y., L.R. JOHNSON, W. VERNAU (2015): Tracheobronchial Brush Cytology and Bronchoalveolar Lavage in Dogs and Cats with Chronic Cough: 45 Cases (2012–2014). *Vet. Intern. Med.* 29, 526–532.



## 8. SAŽETAK

### Bakterijski uzročnici respiratornih infekcija pasa

U ovom istraživanju retrospektivno su obrađeni arhivski podaci Laboratorija za dijagnostiku bakterijskih bolesti konja Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom Veterinarskog fakulteta u Zagrebu, u četverogodišnjem vremenskom razdoblju (2015- 2019). Prikupljeni su i analizirani rezultati bakterioloških pretraga dijagnostičkih materijala porijeklom od pasa sa znakovima bolesti respiratornog sustava. Cilj je bio utvrditi koliko često su prisutni bakterijski uzročnici, jesu li izdvojeni u čistoj ili mješovitoj bakterijskoj kulturi, koje bakterijske vrste se najčešće izdvajaju i odrediti njihovu antimikrobnu osjetljivost. Bakterije su izdvojene iz 72,3% uzoraka, i to u čistoj bakterijskoj kulturi u 55,5% slučajeva, a u mješovitoj u 45,5% slučajeva. Najčešće izdvojene bakterijske vrste bile su *B.bronchiseptica*, zatim *S. pseudintermedius*, *E. coli* i KN *Staphylococcus* sp. Antimikrobna osjetljivost navedenih bakterija prikazana u ovom radu upućuje na zaključak da je ponekad otežan odabir empirijske terapije, te činjenicu da su objektivna dijagnostika i izdvajanje bakterija ponekad neophodni u izboru pravilne antimikrobne terapije.

Ključne riječi: respiratorne infekcije, bakterijski uzročnici, antimikrobna osjetljivost

## 9. SUMMARY

### Bacterial causative agents of respiratory infections in dogs

This research retrospectively processed archive data of the Laboratory for diagnostics of bacterial diseases of Department for microbiology and infectious diseases with clinic of Veterinary faculty in Zagreb, during time period of four years (2015- 2019). Results of bacteriological examination of diagnostic material originating from dogs with clinical signs of respiratory disease were analysed. Aim of the study was to determine how often bacterial agents were present, were they cultivated in pure or mixed culture, which bacterial species were most often detected and to define their antimicrobial susceptibility. Bacterial agents were found in 72,3% of all cases – 55,5% in pure and 45,5% in mixed culture. Most commonly isolated bacterial species were *B.bronchiseptica*, followed by *S.pseudintermedius*, *E.coli* and coagulase-negative *Staphylococcus* sp. Antimicrobial susceptibility was assessed for each one of the bacteria mentioned above, which indicated difficulty in choosing proper empirical therapy for the patients. Moreover, it proved the fact that objective diagnostics and bacterial culture is sometimes essential in selection of appropriate antimicrobial therapy.

Key words: respiratory diseases, bacterial causative agents, antimicrobial susceptibility

## 10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 28. prosinca 1994. godine u Zagrebu. Pohađala sam Osnovnu školu Većeslav Holjevac, nakon čega upisujem V.gimnaziju u Zagrebu, sa uspješnim završetkom 2013.godine. Studentica Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu postajem u jesen iste godine. Volontirala sam na Klinici za zarazne bolesti sa mikrobiologijom Veterinarskog fakulteta u razdoblju od 2017. do 2019.godine, a jedan od semestara imala sam čast biti demonstrator Zavoda za zarazne bolesti s mikrobiologijom.

Sudjelovala sam na brojnim veterinarskim kongresima: „7. međunarodni kongres Veterinarska znanost i struka“ (Zagreb, 2017.); „3. Istočno europska regionalna veterinarska konferencija“ (Zagreb, 2018.); „11. Veterinarski seminar male prakse“ (Zagreb, 2018.); „DDL 12. veterinarski seminar“ (Zagreb, 2019.). Jedina sam dobitnica FECAVA (Federation of Companion Animal Veterinary Associations) studentske stipendije iz Hrvatske, uz pomoć koje sam imala priliku biti dio „25.FECAVA Eurocongress“-a u St.Petersburgu (Rusija, 2019.).

Tijekom studiranja bila sam član studentske udruge IVSA (International Veterinary Student Association) s kojom sam sudjelovala u brojnim događajima i razmjenama sa studentima veterinarske medicine iz cijeloga svijeta. Prisustvovala sam dvama svjetskim kongresima – u Maleziji 2017. godine i Južnoj Koreji 2019. godine, te sam bila dio organizacijskog odbora 68. IVSA kongresa koji se održao u Zagrebu u ljeto 2019.godine.

U sklopu ERASMUS+ prakse posljednji semestar fakultetskog obrazovanja provela sam u Parizu (Francuska), na klinici za male životinje „Gambetta“, gdje sam stekla dodatno praktično iskustvo. Apsolventsku godinu upisala sam po završetku XII. semestra, kako bih se detaljno posvetila preostalim ispitima i pisanju diplomskog rada. U slobodno vrijeme bavim se sportom, svojim kućnim ljubimcima i stranim jezicima – engleskim i francuskim.