Vrste i antimikrobna osjetljivost beta-hemolitičkih streptokoka izdvojenih iz konja

Fuš, Klara

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:192819

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-30**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Veterinary Medicine - Repository of PHD, master's thesis

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULTET

SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I DIPLOMSKI STUDIJ

VETERINARSKA MEDICINA

DIPLOMSKI RAD

Klara Fuš

Vrste i antimikrobna osjetljivost beta-hemolitičkih streptokoka izdvojenih iz konja

Zagreb, 2024.

Klara Fuš

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom, Odjela za veterinarsko javno zdravstvo i sigurnost hrane, Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Predstojnik zavoda:

Prof. dr. sc. Vilim Starešina

Mentorica:

Prof. dr. sc. Zrinka Štritof

Članovi Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Doc. dr. sc. Matko Perharić
2. Izv. prof. dr. sc. Suzana Hađina
3. Prof. dr. sc. Zrinka Štritof
4. Prof dr. sc. Vilim Starešina, zamjena

Rad sadržava 48 stranica, 7 slika, 2 tablice, 135 literaturnih navoda.

ZAHVALA

Od srca zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Zrinki Štritof, na stalnoj podršci, konstruktivnim kritikama i strpljenju tijekom izrade ovog diplomskog rada. Izuzetno cijenim vaše nesebično ulaganje vremena i truda. Svojim primjerom niste samo pomogli u stvaranju ovog rada, već ste me nadahnuli da u budućnosti i sama težim izvrsnosti i predanosti, kako u profesionalnom, tako i u osobnom životu. Hvala vam na svemu što ste učinili za mene, i što ste mi pružili priliku da rastem pod vašim vodstvom.

Puno hvala Petri i Nikoli na izdvojenom vremenu i pomoći tijekom izvođenja praktičnog dijela ovog rada u laboratoriju.

Želim izraziti duboku zahvalnost svojoj obitelji, mami, bratu, baki i ujaku,na ljubavi i podršci tijekom cijelog ovog putovanja. Vaša vjera u mene u trenucima kada sam sumnjala u svoje sposobnosti, bila je moj najveći motivator. Hvala vam na svemu što ste učinili za mene, i na tome što ste uvijek vjerovali u moj uspjeh, čak i kad je bilo teško.

Također želim zahvaliti svojim prijateljima, posebno Ani F., Tessi, Astrid, sestrični Matei i mom Kruni koji su bili uz mene tijekom cijelog ovog zahtjevnog, ali vrijednog procesa studiranja. Vaša podrška, razumijevanje i prijateljstvo su me nosili kroz svaki izazov te su me inspirirali da ustrajem i u najtežim trenucima. Hvala vam što ste uvijek bili tu za mene, bilo da je riječ o zajedničkom učenju, riječima ohrabrenja ili pružanju predaha kroz smijeh i druženje. Vaša sposobnost da me nasmijete i podignete kada sam bila najviše pod pritiskom, neizmjerno mi je značila i pomogla da ostanem usredotočena i pozitivna. Zahvaljujem vam i na vašem strpljenju i razumijevanju, posebno u trenucima kada sam bila preopterećena fakultetskim obavezama i kada su naše zajedničke aktivnosti bile stavljene u drugi plan. Posebno zahvaljujem onima koji su mi pomogli kroz konstruktivne savjete, nesebično dijeljenje vlastitih iskustava i stalno poticanje da vjerujem u sebe i svoje sposobnosti. Vaša vjera u mene dala mi je dodatnu snagu i samopouzdanje da ostvarim ovaj važan cilj

POPIS PRILOGA:

Popis slika

Slika 1. Mikroskopski izgled bakterija roda *Streptococcus*

Slika 2. Vrste hemolize na krvnom agaru

Slika 3. Porijeklo izolata beta-hemolitičkih streptokoka

Slika 4. Metode identifikacije beta-hemolitičkih streptokoka

Slika 5. Raspodjela vrsta beta-hemolitičkih streptokoka

Slika 6. Porijeklo izolata vrste *S. equi* subsp. *zooepidemicus*

Slika 7. Porijeklo izolata vrste *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*

Popis tablica

Tablica 1. Antimikrobna osjetljivost *S. equi*, *S. zooepidemicus*, *S. equisimilis*, *S. equinus* i *S. canis* na penicilin, ceftiofur i enrofloksacin

Tablica 2. Antimikrobna osjetljivost *S. equi*, *S. zooepidemicus*, *S. equisimilis*, *S. equinus* i *S. canis* na trimetoprim/sulfametoksazol, eritromicin i gentamicin

POPIS I OBJAŠNJENJA KRATICA:

BHS – Beta-hemolitički streptokoki

PCR – Lančana reakcija polimerazom (engl. *Polymerase Chain Reaction*)

SLS - Streptolizin S

SeM – M protein (faktor virulencije), (engl. *m-like protein*)

SePe-I - Pirogeni egzotoksin I

DNK - Deoksiribonukleinska kiselina

IgGb - Imunoglobulini G

IgA - Imunoglobulini A

PSGN - Poststreptokokni glomerulonefritis

CSLI - Institut za standarde klinika i laboratorija (engl. *Clinical and Laboratory Standards Institute*)

EUCAST – Europski odbor za testiranje antimikrobne osjetljivosti (engl. *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*)

HCl – Klorovodična kiselina

SXT – Trimetoprim/sulfametoksazol

MALDI-TOF - Masena spektrometrija laserskom desorpcijom/ionizacijom potpomognutom matricom (engl. *Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry*)

SADRŽAJ

1.UVOD 1

2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA 3

2.1. Bakterije roda *Streptococcus* 3

2.1.1. Vrste hemolize na krvnom agaru 4

2.1.2. Određivanje serološke skupine po Lancefieldovoj 5

2.2. *Streptococcus equi* subsp. *equi* 7

2.3. *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* 14

2.4. *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* 17

2.5. Beta-hemolitički streptokoki konja kao uzročnici zoonoza 18

3.MATERIJALI I METODE 22

3.1.Uzorci i identifikacija bakterija 22

3.2.Određivanje antimikrobne osjetljivosti 22

4.REZULTATI 23

4.1.Prevalencija i vrste beta-hemolitičkih streptokoka 23

4.2.Antimikrobna osjetljivost beta-hemolitičkih streptokoka 26

5. RASPRAVA 29

6.ZAKLJUČCI 31

7.LITERATURA 32

8.SAŽETAK 46

9.SUMMARY 47

10.ŽIVOTOPIS 48

1. UVOD

Bakterije roda *Streptococcus* česti su uzročnici infekcija različitih organskih sustava konja, a mogu biti komenzali, obligatni i uvjetni patogeni te uzrokovati ozbiljne i ekonomski značajne bolesti konja (Erol i sur., 2012.). Najčešće uzrokuju infekcije limfnih čvorova, dišnog i spolnog sustava te neonatalnu septikemiju, često povezanu s infekcijom spolnog sustava kobile (Quinn i sur., 2011.). Najvažnije vrste streptokoka u konja, *Streptococcus equi* subsp. *equi* (*S. equi*), *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) i *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (*S. equisimilis*) tvore beta-hemolizu na krvnom agaru zbog čega pripadaju skupini beta-hemolitičkih streptokoka (BHS). *S. equi* obligatni je patogen kod konja, a uzrokuje ždrebećak, visoko kontagioznu zaraznu bolest koja se očituje stvaranjem apscesa u limfnim čvorovima glave i vrata. Zračni mjehur je često inficiran u ranim fazama infekcije, a manji postotak inficiranih konja ostaje trajno inficiran i nastavlja izlučivati uzročnika mjesecima pa i godinama te predstavljaju izvor infekcije za sve primljive životinje. *S. zooepidemicus* smatra se komenzalom na sluznicama usne šupljine, ždrijela i respiratornog sustava konja, uzrokuje oportunističke infekcije u respiratornom i reproduktivnom sustavu i najčešća je bakterija koja uzrokuje placentitis kod kobila. Zoonotski je patogen i uzrokuje bakterijemiju, meningitis te artritis kod ljudi. *S. equisimilis* smatrao se rijetkom i ne toliko značajnom vrstom, no pokazalo se da nerijetko uzrokuje infekcije različitih organskih sustava u konja. Izoliran je iz tkiva vezanih za pobačaj kobila, rjeđe iz apscesa limfnih čvorova i gornjeg respiratornog sustava. Ova vrsta je također važan patogen za ljude te su opisani slučajevi bakterijemije, pneumonije i endokarditisa (Argirova i sur., 2023.; Gosai i Gosai, 2023.; Kerstens i sur., 2021.). Zoonotske infekcije uzrokovane bakterijama roda *Streptococcus,* bile su do nedavno zanemarene unatoč činjenici da je učestalost njihove pojave dramatično porasla. Mogući uzrok tome je nedovoljno precizno identificiranje vrsta jer pojedine vrste zoonotskih streptokoka često nisu bile adekvatno diferencirane u medicinskim bakteriološkim dijagnostičkim laboratorijima. Danas se u većini laboratorija koriste metode koje su ih sposobne diferencirati. S druge strane, učestalost zoonotskih infekcija možda je u porastu i zbog rastuće populacije ljudi, sve intenzivnijeg uzgoja životinja za hranu i sve dinamičnijeg transporta životinja i životinjskih proizvoda kao i sve većeg broja kućnih ljubimaca. Sve navedeno pogoduje intenzivnijem kontaktu životinja i njihovih patogena s ljudima te čini dobre uvjete za prilagodbu životinjskih streptokoka na čovjeka (Fulde i Valentin-Weigand, 2013.). Liječenje

streptokoknih infekcija ovisit će o pogodovnim čimbenicima te o tome koji organski sustav je zahvaćen. Beta-hemolitički streptokoki su općenito vrlo osjetljivi na penicilin, koji se smatra prvim izborom u liječenju infekcija uzrokovanih ovim patogenima (Erol i sur., 2012.; Ambrosio i sur., 2022.). Penicilin je učinkovit jer inhibira sintezu stanične stijenke bakterija, što dovodi do njihove lize. Uz penicilin, ceftiofur i eritromicin se također često koriste, posebno kod pacijenata koji su alergični na penicilin. Ceftiofur, kao cefalosporinski antibiotik, pruža širok spektar djelovanja protiv gram-pozitivnih bakterija (Maddock i sur., 2023.) dok eritromicin, kao makrolid, djeluje inhibicijom sinteze proteina bakterija (Ambrosio i sur., 2022.). Ovi antibiotici su poželjni zbog svoje učinkovite penetracije u tkiva i niskog potencijala za razvoj rezistencije, što osigurava visoku učinkovitost u liječenju infekcija beta-hemolitičkim streptokokima (Erol i sur., 2012.; Maddock i sur., 2023.). U ovom će se radu retrospektivno analizirati arhivski podaci Laboratorija za dijagnostiku bakterijskih bolesti konja Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom, proizašli iz rutinskih dijagnostičkih pretraga kliničkih uzoraka porijeklom iz konja, prikupljenih tijekom devetogodišnjeg razdoblja (2013.-2022.). Cilj ovog istraživanja bio je istražiti učestalost izdvajanja BHS-a iz kliničkih uzoraka konja, raspodjelu vrsta i njihovu antimikrobnu osjetljivost.

2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

2.1. Bakterije roda *Streptococcus*

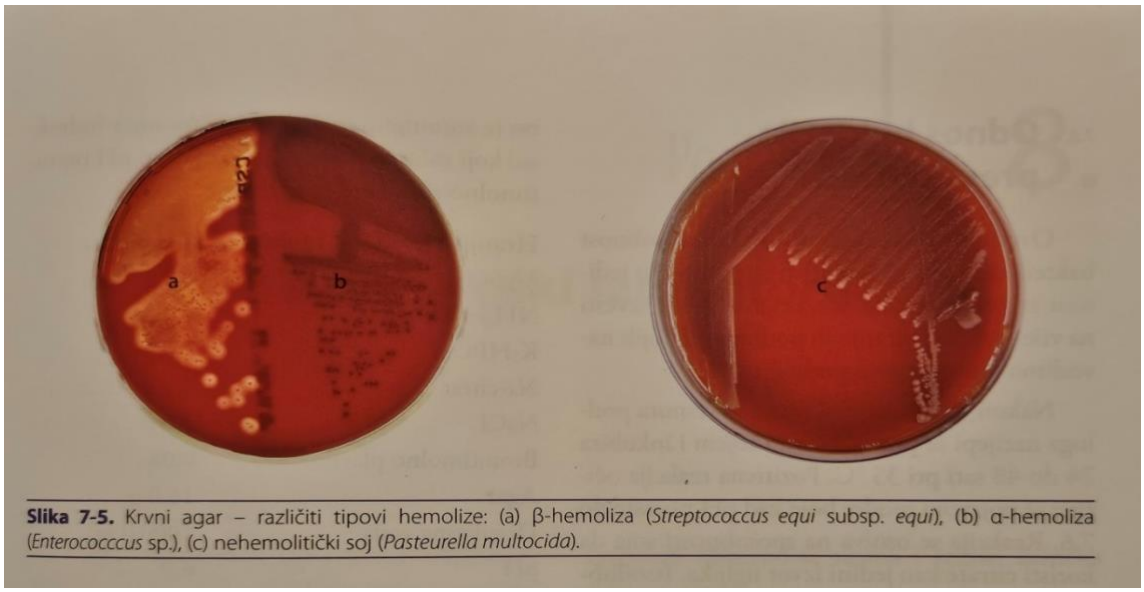
Streptokoki su skupina bakterija koje uzrokuju bolesti kod svih životinjskih vrsta, uzrokujući gnojna stanja poput mastitisa, metritisa, poliartritisa i meningitisa. Oni su kokoidnog oblika, gram-pozitivni, katalaza-negativni, fakultativno anaerobni, nepokretni (Slika 1.). Osjetljive su i zahtjevne bakterije kojima je za rast potreban krvni agar. Rasprostranjeni su diljem svijeta. Većina vrsta živi kao komenzali na sluznici gornjih dišnih puteva i sluznici donjeg urogenitalnog trakta. Ove bakterije osjetljive su na isušivanje i izvan domaćina preživljavaju kratko (Quinn i sur., 2011.; Hernandez i Julia, 2023.). Za konvencionalnu laboratorijsku diferencijaciju streptokoka koriste se tri postupka, a to su vrsta hemolize (Slika 2.), određivanje skupine po Lancefieldovoj i određivanje biokemijskih svojstava. Uzorci za pretragu, ovisno o lokalizaciji infekcije, mogu uključivati eksudate, gnoj, sekret mliječne žlijezde, strugotine kože, cerebrospinalnu tekućinu, urin i druga zahvaćena tkiva. Obzirom da su streptokoki vrlo osjetljivi na isušivanje, uzorke je nakon uzimanja potrebno ispravno pohraniti, na način da ih stavimo u transportni medij ukoliko se uzorci ne mogu odmah obraditi. Nizovi gram pozitivnih koka mogu se vidjeti u obojenim razmazima iz uzoraka. Uzorci se nacjepljuju na hranjivu podlogu s dodatkom krvi, koja se potom inkubira na 37 °C tijekom 24 do 48 sati. Većina streptokoka proizvodi male kolonije promjera oko jedan milimetar nakon 48 sati inkubacije, a u slučaju beta-hemolitičkih streptokoka, kolonije izgledaju prozirno. Može doći do varijacija u izgledu kolonija te neke od njih mogu biti sluzave što nije rijetko kod *S. equi* i *S. zooepidemicus*. Iako postoje varijacije u vrsti hemolize unutar pojedine vrste streptokoka, hemolitička aktivnost je korisno dijagnostičko svojstvo. Dakle, vrste streptokoka identificiraju se na temelju kulturelnih, morfoloških i biokemijskih svojstava, vrste hemolize koju tvore na krvnom agaru, i određivanjem skupine po Lancefieldovoj (Quinn i sur., 2011.).

Slika 1. Mikroskopski izgled bakterija roda *Streptococcus*

2.1.1. Vrste hemolize na krvnom agaru

Streptokoki na krvnom agaru tvore tri vrste hemolize (Slika 2.):

a) Beta-hemoliza je potpuna hemoliza koja se očituje prozirnim zonama oko kolonija zbog lize eritrocita
b) Alfa-hemoliza je djelomična ili nepotpuna hemoliza koja se očituje zelenkastim, nejasnim zonama oko kolonija
c) Gama-hemoliza nema vidljivih promjena u krvnom agaru oko kolonija
(Quinn i sur., 2011.)



Slika 7-5. Krvni agar – različiti tipovi hemolize: (a) β-hemoliza (*Streptococcus equi* subsp. *equi*), (b) α-hemoliza (*Enterococccus* sp.), (c) nehemolitički soj (*Pasteurella multocida*).

Slika 2. Vrste hemolize na krvnom agaru (Naglić i sur., 2017.)

2.1.2. Određivanje serološke skupine po Lancefieldovoj

Godine 1928. američka bakteriologinja Rebecca Lancefield objavila je istraživanje o kemijskom sastavu i antigenosti hemolitičkih streptokoka (Waller i sur., 2011.). Godine 1933. opisala je klasifikaciju streptokoka u skupine prema njihovoj sposobnosti da induciraju proizvodnju antitijela koja uzrokuju precipitaciju streptokoka (Waller i sur., 2011.). Ove skupine su sada poznate kao skupine prema Lancefieldovoj (Waller i sur., 2011.). Određivanje serološke skupine po Lancefieldovoj je dakle metoda klasifikacije bazirana na c supstanci specifičnoj za skupinu. Većina patogenih streptokoka posjeduje c-supstancu, polisaharidni antigen stanične stijenke koji se razlikuje među vrstama i upotrebljava se redovito za klasifikaciju kliničkih izolata streptokoka (Quinn i sur., 2011.). Postoje skupine od A do H i K do V. Neki izolati se ne mogu grupirati. Metode za određivanje serološke skupine po Lancefieldovoj uključuju konvencionalnu metodu poput precipitacijskog testa te se c-supstanca ekstrahira ili autoklaviranjem ili kiselinom (klorovodična kiselina). Test se provodi na način da se ekstrahirani antigen nanese na slojeve preko poznatih antiseruma koji se mogu komercijalno nabaviti za određene Lancefield grupe. Druga metoda je lateks aglutinacijski test koji je ujedno i najčešće korišten, a komercijalno su dostupni kompleti za identifikaciju skupina po Lancefieldovoj A, B, C, D, F i G. Većina za životinje patogenih streptokoka su piogene bakterije koje su obično usko povezane sa stvaranjem apscesa, drugim gnojnim stanjima i septikemijom (Markey i sur., 2013.). Streptokoki skupine A prema Lancefieldovoj, ponajprije

Streptococcus pyogenes (*S. pyogenes*) važni su streptokoki u humanoj medicini, nasuprot tome, streptokoki skupine C, osobito *S. equi i S. zooepidemicus* imaju veću važnost u veterinarskoj medicini kod konja (Waller i sur., 2011.). Općenito, beta-hemolitički streptokoki patogeniji su za životinje, u odnosu na one koji tvore alfa hemolizu (Quinn i sur., 2011.). Polisaharidne kapsule koje su glavni čimbenici virulencije *S. piogenes, S. pneumoniae* i većine sojeva *S. equi* su antifagocitne. U nedostatku antifagocitnih čimbenika te bakterije brzo ubijaju fagociti. Streptokoki izolirani iz konja koji spadaju u C skupinu tvore velike čiste zone beta hemolize. Iako su skupine po Lancefieldovoj i dalje fenotipski korisne, poznato je da potpuno nepovezane vrste beta-hemolitičkih streptokoka mogu proizvesti identične antigene i da sojevi koji su povezani na razini vrste mogu pripadati različitim skupinama prema Lancefieldovoj (Waller i sur., 2011.).

Priprema antigena za grupiranje po Lancefieldovoj precipitacijskim testom

Vruća ekstrakcija klorovodičnom kiselinom (HCl)

Čista kultura streptokoka uzgaja se u 25 ml Todd-Hewitt bujona na 37 °C tijekom 24 do 48 sati. Nakon tog slijedi centrifugiranje bujona kako bi se koncentrirale odnosno sedimentirale stanice i kako bi odbacili supernatant. Dodaje se 1 ml temeljne smjese HCl-fiziološke otopine (1 ml HCl-a + 99 ml fiziološke otopine) te se njome resuspendiraju stanice. Slijedi inkubiranje u kipućoj kupelji tijekom 15 minuta i nakon toga hlađenje. Doda se jedna kap fenol crvenog indikatora i neutralizira s N/10 NaOH dok suspenzija ne postane blijedo-ružičaste boje. Nakon toga ponovno slijedi centrifugiranje te se nastali supernatant koristi kao antigen za test.

Ekstrakcija autoklavom

Čista kultura streptokoka uzgaja se u 25 ml Todd-Hewitt bujona na 37 °C tijekom 24 do 48 sati. Slijedi centrifugiranje bujona kako bi se koncentrirale odnosno sedimentirale stanice i kako bi odbacili supernatant. Dodaje se 0,5 ml 0,85% otopine NaCl u stanice i protrese za resuspendiranje. Suspenzija se autoklavira tijekom 15 minuta na 121 °C, nakon čega se ohladi, centrifugira te se supernatant pretoči u novu epruvetu i koristi kao antigen u testu. Pozitivna reakcija očituje se kroz 5 do 30 minuta pojavom bijelog taloga u obliku prstena (Markey i sur., 2013.).

2.2. *Streptococcus equi* subsp. *equi*

S. equi uzročnik je ždrebećaka, visoko kontagiozne zarazne bolesti konja (Quinn i sur., 2011.; Boyle, 2023.; Morales i sur., 2023.). Bolest je opisana vrlo rano u veterinarskoj znanstvenoj literaturi te je prvi put o njoj izvjestio Jordanus Ruffus 1251. godine. *S. equi* je gram pozitivna kokoidna bakterija koja obično tvori parove ili nizove. Za razliku od mnogih drugih vrsta streptokoka, *S. equi* je obligatni patogen. Kolonije na pločama krvnog agara često su, ali ne i uvijek, mukoidne, boje meda i okružene širokom zonom beta-hemolize. Morfologija kolonija vrste *S. equi* može biti identična onoj vrste *S. zooepidemicus* pa ih razlikujemo po tome što *S. equi* ne fermentira laktozu i sorbitol. No međutim neki sojevi *S. zooepidemicus* također ne uspijevaju fermentirati te šećere zbog čega su testovi temeljeni na DNK (PCR) puno osjetljiviji i precizniji u dijagnostici (Moghaddam i sur., 2023.; Weese i sur., 2023.).

Ulazna vrata infekcije su usta i nos, a *S. equi* za razliku od *S. zooepidemicus*, ne kolonizira nazofarinks i često se niti ne detektira u nazofaringealnim brisevima ili ispircima uzetim 24 sata od infekcije. Izvor zaraze je gnojni iscjedak bolesnih konja ili konja koji se oporavljaju od bolesti. Bolest se prenosi izravnim i neizravnim kontaktom. Izravan kontakt odvija se kroz normalno društveno ponašanje konja, a prijenos infekcije osobito je uspješan tijekom međusobnog kontakta glavama. Neizravan prijenos omogućen je zajedničkim korištenjem kontaminiranih nastambi, izvora vode, hrane za životinje ili posuda za hranjenje, kukaca ili odjećom, opremom rukovatelja, njegovatelja, potkivača ili veterinara, osim ako su poduzete sve mjere predstrožnosti kako se na taj način ne bi proširila bolest (Sweeney i sur., 2013.). Prijenos bolesti od naizgled zdravih životinja koje su u fazi inkubacije ili su inaparentni kronični nosioci, a izlučuju uzročnika bez izraženih kliničkih znakova ima značajnu ulogu kod novih izbijanja bolesti (Morris i sur., 2021.). Apscesi u retrofaringealnim limfnim čvorovima rupturiraju, sadržaj se cijedi kroz nosne prohode, a može ući i u zračne mjehure. U 10% slučajeva nepotpuna drenaža vodi do sušenja i stvrdnjavanja gnojnog sadržaja prilikom čega dolazi do stvaranja hondroida u zračnim mjehurima koji sadrže vitalnu i infektivnu populaciju *S. equi*. Postoje dokazi da kod nekih konja, u zračnim mjehurima ili sinusima uzročnik ostaje i duže od pet godina nakon ozdravljenja (Newton i sur., 2000.). Iako se bolest može javiti u bilo kojoj dobi, osobito imunokompromitiranih, konja, ipak se češće javlja kod mladih konja i ždrebadi. Okupljanje konja na prodajnim sajmovima, izložbama i natjecanjima povećava rizik od zaraze (Waller i sur., 2011.).

Umjesto da kolonizira površinu epitela, *S. equi* brzo prelazi na tonzilarno tkivo gdje se brzo razmnožava stvarajući mnoge izvanstanične mikrokolonije. Otkriven je u limfnim čvorovima glave i vrata unutar tri sata nakon infekcije (Timoney i Kumar, 2008.). Uzročnik proizvodi niz čimbenika koji navodno povećavaju njegovu sposobnost repliciranja *in vivo* i remete rad imunološkog sustava konja. Uzimanje željeza važan je proces za sve patogene bakterije (Brown i Holden, 2002.). U tkivima domaćina sisavaca željezo se sekvestrira transferinom, laktoferinom ili unutar crvenih krvnih stanica (Wooldridge i Williams, 1993.). Bakterijski patogeni pristupaju ovoj ograničenoj opskrbi željezom kroz proizvodnju staničnih površinskih receptora za transferin i laktoferin koristeći spojeve koji sadrže hem, transportere željeza te sintezu i izlučivanje siderofora koji vežu željezo (Wandersman i Delepelaire, 2004.). *S. equi* sadrži kodiran jedinstveni mehanizam za vezanje željeza koji ne postoji u svim do sada ispitanim sojevima *S. zooepidemicus* (Holden i sur., 2009.). Uvjetno je nazvan ekvibaktin te on pojačava sposobnost *S. equi* da apsorbira željezo *in vitro* (Heather i sur., 2008.). *S. equi* i *S. zooepidemicus* proizvode streptolizin S (SLS), koji je odgovoran za karakterističnu zonu beta-hemolize koja okružuje kolonije na pločama krvnog agara (Flanagan i sur., 1998.). Toksin je gotovo identičan onome koji proizvodi većina sojeva *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*), koji ima izravan citopatski učinak na mnoge vrste stanica domaćina (Wannamaker, 1983.). Podaci iz istraživanja sugeriraju da SLS igra ulogu u virulenciji *S. equi*, ali pokazuju da su i drugi čimbenici također važni za sposobnost ovog organizma da uzrokuje bolest. Također proizvodi moćne imunostimulirajuće molekule koje ometaju urođene i adaptivne imunološke odgovore nespecifičnom proliferacijom T-limfocita i stvaranjem pretjeranog proupalnog odgovora (Sriskandan i sur., 2007.). Akutni ždrebećak često je praćen edemom na aferentnoj strani inficiranih mandibularnih i retrofaringealnih limfnih čvorova, što može biti posljedica kontrakcije kolagena u kapsuli ovih čvorova. Jedna od posljedica neodgovarajućeg imunološkog odgovora akutne faze koju stvara *S. equi* je porast tjelesne temperature (Artiushin i sur., 2002.), koja se može pratiti i detektirati dok životinja ne izlučuje uzročnika. Zbog toga nakon što se potvrdi izbijanje bolesti, pretpostavljeno zaraženi pireksični konji mogu se identificirati i izolirati prije nego što se bolest prenese na druge životinje odnosno konje (Boyle i sur., 2018.). *S. equi*, kao što je već spomenuto koristi niz antifagocitnih čimbenika i mehanizama koji zbunjuju urođeni imunološki odgovor. Kao i mnoge druge patogene bakterije, *S. equi* proizvodi kapsulu hijaluronske kiseline koja oponaša molekule u tkivu kralježnjaka i na taj način sebe štiti od toga da ju detektira imunološki sustav domaćina (Woolcock, 1974.). Kapsula hijaluronske kiseline je polimer visoke molekularne težine koji se sastoji od izmjeničnih ostataka N-acetilglukozamina i glukuronske kiseline. Virulentni izolati *S. equi* iz

slučajeva ždrebećaka gotovo su uvijek visoko inkapsulirani i proizvode vrlo mukoidne kolonije, dok su neinkapsulirani mutanti mnogo manje virulentni (Galan i sur., 1985.; Anzai i sur., 1999.). Antifagocitna kapsula uvelike smanjuje broj streptokoka koji se povezuju s površinom neutrofila nakon čega budu progutani i ubijeni. Kapsula također povećava negativan naboj i hidrofilnost površine bakterija te proizvodi lokalizirano reducirajuće okruženje koje štiti aktivnost kisik labilnih proteaza i toksina kao što je streptolizin S. Kapsula je također potrebna za funkcionalnost antifagocitnog M proteina i vjerojatno drugih površinom izloženih hidrofobnih proteina. U nedostatku hidrofilne kapsule ti proteini gube trodimenzionalnu konformaciju bitnu za funkcionalnost stoga neinkapsulirani *S. equi* bude učinkovito fagocitiran (Timoney, 2004.), zbog čega se infekcija rijetko širi izvan limfnog sustava i većina konja se oporavi od ždrebećaka unatoč velikoj infektivnoj dozi tijekom akutne faze bolesti (Waller i sur., 2011.). Čimbenici virulencije *S. equi* dakle uključuju neantigenu kapsulu hijaluronske kiseline, hijaluronidazu, streptolizin S, streptokinazu, proteine IgG Fc-receptora, pirogene egzotoksine uključujući SePe-I i H, peptidoglikan i antifagocitni M protein (SeM). Također postoje dokazi o postojanju leukocidnog toksina (Timoney, 2004.).

Inkubacijski period traje od 3 do 6 dana, a tijek nekompliciranog oblika bolesti traje 5 do 10 dana. Ne mogućnost urođenog imunološkog odgovora da ubije *S. equi* rezultira otpuštanjem kemotaktičnih čimbenika izvedenih iz komplementa i masivnim priljevom neutrofila u tkiva tonzila i drenirane limfne čvorove u koje je *S. equi* metastazirao (Waller, 2011.; Boyle, 2023.). Karakteristična je nagla pojava vrućice praćena kataralnom upalom gornjih dišnih puteva što se očituje mukopurulentnim iscjetkom i akutnim oticanjem s naknadnim stvaranjem apscesa u submandibularnim i retrofaringealnim limfnim čvorovima uslijed rasta broja bakterija. Doslovan prijevod naziva bolesti sa engleskog je davljenje, zato što bi se oboljeli konji ponekad gušili zbog povećanih limfnih čvorova koji su radili pritisak na dišne puteve. Ozbiljnost bolesti uvelike varira ovisno o imunološkom statusu životinje. Stariji konji često izraze blaži oblik bolesti karakteriziran iscjetkom iz nosa, malim apscesima i brzim oporavkom dok je kod mlađih konja vjerojatnije da će se razviti teški apscesi limfnih čvorova koji se kasnije otvaraju i cijede. Faringitis uzrokuje disfagiju, a oboljele životinje mogu postati anoreksične ili nevoljko jesti te često stoje s ispruženim vratom. Pokušaji gutanja hrane i vode mogu biti praćeni refluksom istih iz nosa. Depresija i bezvoljnost uobičajeni su znakovi. Razvoj faringitisa, laringitisa i rinitisa će pridonijeti obostranom iscjetku iz nosa. Nakupljanje gnojnog eksudata može uzrokovati šmrcanje i klopotanje gornjih dišnih puteva. Sluznice oka i nosa mogu postati hiperemične, a može se pojaviti i gnojni iscjedak iz oka iz kojeg se može izolirati *S. equi*. Limfadenopatija je glavni klinički znak. Submandibularni i retrofaringealni limfni

čvorovi zahvaćeni su približno jednakom učestalošću u infekcijama sa *S. equi* i postaju natečeni i bolni oko tjedan dana od početka infekcije. Prvi znak limfadenopatije često je vrući difuzni bolni edem te se može vidjeti serum koji se cijedi iz kože dok apscesi limfnih čvorova sazrijevaju, nakon čega puknu kako bi iscurio gust, kremast gnoj koji nema neugodan miris. Ostali limfni čvorovi rostralno u vratu često mogu biti zahvaćeni i imati apscese, a nakon toga puknuti i uliti se u zračne mjehure te uzrokovati njihov empijem, što je relativno čest nalaz. Zračni mjehur je proširenje Eustahijeve tube i ulijeva se u nosnu šupljinu. Kod većine konja završetkom infekcije dolazi do cijeđenja gnoja, no kao što je već spomenuto u 10% slučajeva ne dolazi do potpunog cijeđenja te se od zaostalog sadržaja stvaraju hondroidi koji mogu sadržavati žive *S. equi* koji ostaju u zračnim mjehurima i nekoliko godina (Newton i sur., 1997.; Verheyen i sur., 2000.). Te perzistentne infekcije kod konja nosioca vjerojatno su bile ključne za globalno širenje *S. equi* jer povremeno izlučivanje uzročnika iz zračnih mjehura inače klinički zdravih konja doprinosi održavanju bolesti (Waller i sur., 2011.). Prirodna drenaža dubljih apscesa u koži može potrajati nekoliko dana ili tjedana. Apsces retrofaringealnih limfnih čvorova nije uvijek jasno uočljiv izvana. Periorbitalni apscesi mogu uzrokovati izrazito oticanje kapaka. Apscesi limfnih čvorova na torakalnom ulazu mogu uzrokovati jaku kompresiju dušnika, asfiksiju i smrt. Pritisak na grkljan često uzrokuje izraženu bol, stridor i grgljanje nakon čega slijedi kašalj i držanje vrata u ekstenziji. Morbiditet može biti i do 100%, a mortalitet je obično manji od 5%. Do reinfekcije može doći kod dijela oporavljenih konja, a imunitet je solidan kod 75% preboljelih konja.

Smrt može biti posljedica komplikacija kao što su upala pluća, zahvaćen živčani sustav, asfiksija uslijed pritiska na ždrijelo povećanih limfnih čvorova ili *purpura haemorrhagica*. *Purpura haemorrhagica* se smatra imunološki posredovanom bolešću te se može pojaviti kod nekih konja 1 do 3 tjedna od početka bolesti.

Važno je razlikovati *S. equi* od *S. zooepidemicus* i *S. equisimilis* koji uzrokuju blage infekcije gornjeg respiratornog sustava. Klinički oblik ždrebećaka kod kojeg dolazi do metastatskog razvoja apscesa na unutarnjim organima (engl. *Bastard strangles*) je ozbiljna komplikacija u oko 1% oboljelih konja. Apscesi, osobito retrofaringealnih limfnih čvorova, mogu dovesti do opstrukcije gornjih dišnih puteva, mogu stisnuti ždrijelo, grkljan ili dušnik, što zahtjeva traheostomiju u teškim slučajevima. Privremena laringealna hemiplegija koja je posljedica oštećenja rekurentnog laringealnog živca zbog povećanja retrofaringealnih i prednjih cervikalnih limfnih čvorova također može pridonijeti dispneji. Četiri od petnaest konja s kompliciranim ždrebećakom je imalo opstrukciju gornjih dišnih puteva koja je zahtjevala traheostomiju, a smrt je pripisana opstrukciji kod dva od četiri konja. Disfagija se također može

pojaviti kao rezultat povećanja limfnih čvorova ili empijema zračnih mjehura. Otprilike 20% konja koji obole od ždrebećaka doživi neku vrstu komplikacija, a prisutnost komplikacija uvelike povećava stopu smrtnosti (Sweeney i sur., 1987.). Sweeney i sur. (1987.) opisuju pojavu ždrebećaka na farmi od 235 konja, gdje je oboljelo 74 (31,5%) konja, od kojih je 15 (20,3%) razvilo komplikacije bolesti. Stopa smrtnosti kod konja s komplikacijama bila je 40% u usporedbi s ukupnom stopom smrtnosti od 8,1% (Sweeney i sur., 1987.). Komplikacije uključuju širenje infekcije na dijelove tijela osim glave i vrata, imunološki posredovane procese i agalakciju u kobila (Sweeney i sur., 2005.). *S. equi* može potencijalno inficirati bilo koje tkivo. Uzročnik se može širiti hematogeno, limfogeno ili bliskom povezanosti sa septičnim žarištem kao kada povezne strukture poput kranijalnih živaca dopuštaju transport organizma ili kad postoji izravna aspiracija gnojnog materijala. Uobičajena mjesta infekcije uključuju pluća, mezenterij, jetru, slezenu, bubrege i mozak. Respiratorni distres može biti uzrokovan kompresijom dušnika koja je posljedica povećanja kranijalnih medijastinalnih limfnih čvorova. Supurativna bronhopneumonija je ozbiljna posljedica ždrebećaka. Od 15 konja s komplikacijama, pet (33 %) konja je razvilo pleuropneumoniju, a tri (60 %) konja su uginula od njenih posljedica, što ovu komplikaciju čini najčešćim uzrokom smrtnosti (Sweeney i sur., 1987.; Judy i sur., 1999.). Još jedna ozbiljna komplikacija ždrebećaka je širenje infekcije na sinuse i zračne mjehure (Sweeney i sur., 1987.; Newton i sur., 1997.; Newton i sur., 2000.). U općem istraživanju empijema zračnih mjehura, *S. equi* izoliran je u 14 od 44 konja, a kod konja koji su bolovali od ždrebećaka, 5 od 74 je imalo empijem zračnih mjehura. Infekcija zračnih mjehura od posebne je važnosti jer je to najčešće mjesto dugotrajnog prijenosa uzročnika bolesti (Newton i sur., 1997.; Verheyen i sur., 2000.). Konji s infekcijom sinusa također mogu postati dugotrajni nosioci uzročnika. Druga prijavljena stanja povezana s infekcijom sa *S. equi*, uključuju miokarditis, endokarditis, panoftalmitis, periorbitalne apscese, septični artritis i tenosinovitis. Prevalencija metastatskih apscesa općenito je niska, međutim u jednom istraživanju na dvije farme 7 od 25 (28%) konja razvilo je metastatske apscese (Newton i sur., 2000.). Od toga je eutanazija izvršena na 5 konja od kojih je 4 konja imalo neurološke kliničke znakove i potvrđene cerebralne apscese. Razlog visoke učestalosti komplikacija posebice neuroloških bolesti na tim farmama nije jasan, ali mogući razlozi uključuju veliku infektivnu dozu, visoku virulenciju sojeva, razliku u osjetljivosti domaćina i druge neidentificirane čimbenike. Druge imunoposredovane komplikacije koje se mogu razviti su *purpura haemorrhagica*, miozitis, glomerulonefritis, miokarditis te agalakcija (Sweeney i sur., 2013.).

Na bolest ćemo posumnjati na temelju kliničkih znakova i povijesti nedavne izloženosti bolesnim i sumnjivim konjima. Dijagnosticiranje unutarnjih apscesa često je teško. Povijest

izloženosti *S. equi* i laboratorijski rezultati u skladu s kroničnom infekcijom, anemijom, sniženje povišene temperature nakon terapije penicilinskim antibiotikom, hiperfibrinogenemija i hiperglobulinemija podupiru dijagnozu metastatskih apscesa. Najbolji način otkrivanja infekcije zračnih mjehura je izravna vizualna procjena pomoću endoskopije u kombinaciji s citologijom, bakteriološkom pretragom i lančanom reakcijom polimerazom u uzorcima ispiraka zračnih mjehura jer infekcija može biti prisutna bez vidljivih lezija (Sweeney i sur., 2005.). Kolonije su obično mukoidne, do 4 mm u promjeru i okružene širokom zonom beta hemolize. Važno je razlikovati *S. equi* od *S. zooepidemicus* i *S. equismilis*. Asimptomatski kliconoše najbolje se mogu otkriti uzorkovanjem ispiraka zračnih mjehura i pretraživanjem molekularnom metodom, lančanom reakcijom polimerazom (Quinn i sur., 2011.). Ova metoda prepoznaje specifične sekvence DNK tipične za vrstu te je obično osjetljivija od bakteriološke pretrage (Timoney i sur., 1997.; Newton i sur., 2000.; Moghaddam i sur., 2023.; Weese i sur., 2023.). Lančana reakcija polimerazom, dakle može otkriti DNK *S. equi* u ispircima zračnih mjehura tjednima nakon infekcije. To ne vrijedi za nazofarinks, gdje mukocilijarni aparat uklanja organizme i DNK (Sweeney i sur., 2005.). S obzirom da PCR otkriva i živog i mrtvog uzročnika, bakteriološka pretraga uzorka ispirka je idealna metoda za otkrivanje uzročnika (Quinn i sur., 2011.). Stoga svaki pozitivni rezultat PCR-a treba potvrditi bakteriološkom pretragom (Laus i sur., 2007.).

Adekvatno liječenje konja oboljelih od ždrebećaka ovisi o stadiju i težini bolesti. Međutim, većina konja koja ima blaži oblik bolesti ne zahtjeva nikakvo posebno liječenje osim odmora, suhe i tople štale, opskrbe mekom, vlažnom i ukusnom hranom dobre kvalitete. Hrana i voda bi trebali biti lako dostupni te je obavezna pošteda od bilo kakvog rada. Liječenje kliconoša s empijemom zračnih mjehura će ovisiti o konzistenciji i volumenu sadržaja unutar mjehura. Ponavljano ispiranje zračnih mjehura pomoću katetera upotrebom izotonične fiziološke otopine sa spuštenim položajem glave ili pomoću usisne pumpe spojene na endoskop, učinkovito je u uklanjanju gnoja. Sedacija olakšava provedbu endoskopije i drenažu sadržaja iz zračnih mjehura jer konj u sedaciji drži glavu u nižem položaju. Čini se da lokalna i produljena sistemska primjena benzilpenicilina (10 dana), povećavaju stopu uspješnosti liječenja. Verheyen i sur. (2000.) izvijestili su o metodi aplikacije mješavine želatine i penicilina kroz kateter endoskopski vođeno do zračnih mjehura. Takva mješavina se puno duže zadržava u zračnim mjehurima od obične fiziološke otopine. Također, lokalna aplikacija 20% acetilcisteina olakšava spontanu drenažu sadržaja iz zračnih mjehura, no isto tako su prijavljeni slučajevi eritema na sluznici mjehura kao nuspojave. Moguće je i ne kirurško uklanjanje hondroida kroz biopsijski kanal u endoskopu. Ventralna drenaža empijema kroz "Viborgov trokut" donosi

rizike od opće anestezije i potencijalnog oštećenja velikih i važnih krvnih žila i živaca koji se nalaze u neposrednoj blizini kao i od kontaminacije okoline sa *S. equi*. Ponekad se može napraviti ožiljkasto tkivo koje otežava i nekad potpuno onemogućava prirodnu drenažu ili pristup endoskopom zbog čega je potreban kirurški zahvat ili endoskopski vođen laserski tretman koji uklanja ožiljkasto tkivo kako bi imali pristup zračnim mjehurima. Problemi koji nastaju prilikom primjene antibiotika su produženo vrijeme sazrijevanja apscesa ili ponovno stvaranje apscesa nakon prestanka primjene antibiotika zbog čega je uputno da se antibiotici primjene prije nastanka apscesa ili u slučaju teške kliničke kliničke slike bez obzira na već izraženo apscediranje. Neki veterinari preporučuju davanje penicilina inficiranim konjima i onima koji su bili u kontaktu s inficiranim konjima prije razvoja limfadenopatije. Antibiotici se ne bi smjeli koristiti preventivno kod konja kod kojih sumnjamo da su bili izloženi infekciji. Nepotrebnim i prečestim korištenjem antibiotika potičemo razvoj antimikrobne rezistencije, dajemo lažni osjećaj sigurnosti te postoji vjerojatnost da neće doći do razvoja imunosti. Antibiotik izbora je penicilin jer je *S. equi* dobro osjetljiv na njega (Boyle i sur., 2018.). Lokalna primjena Ihtamol masti u kombinaciji s toplim oblozima će ubrzati sazrijevanje apscesa. Kirurška drenaža apscesa limfnih čvorova je indicirana kada ne dođe spontano do rupture no važno je pričekati dok apsces ne sazrije te se njegova kaspula stanji. Primjena nesteroidnih protuupalnih lijekova poput fenilbutazona i fluniksin meglumina može pomoći u snižavanju tjelesne temperature, boli i otečenja na mjestu apscesa. Također može poboljšati apetit životinje. Vrlo rijetko pacjenti sa ždrebećakom trebaju intenzivnu njegu koja uključuje intravensku nadoknadu tekućine, hranjenje preko nazogastrične sonde ili traheostomiju.

U slučaju komplikacija kao što je *purpura haemorrhagica* primarna terapija su kortikosteroidi i to deksametazon u dozi 0,1-0,2 mg/kg kroz dva do četiri tjedna pri čemu se svaka dva dana smanjuje doza za 15% (Pusterla i sur., 2003.). Liječeni konji često su osjetljivi na ponovnu infekciju jer liječenje sprječava razvoj učinkovitog imunološkog odgovora (Sweeney i sur., 2005.), što treba imati na umu ako je životinja nakon prestanka primjene antibiotika i dalje izložena uzročniku bolesti. Antibiotska terapija je od ograničene koristi ako su se formirali apscesi (Quinn i sur., 2011.). Liječenje infekcije koja se proširila zahjeva dugotrajnu antimikrobnu terapiju i odgovarajuće lokalno liječenje s drenažom apscesa ako je moguće (Waller i sur., 2011.) te strogo mirovanje životinje.

Otprilike 75% konja razvije solidan i dugotrajan imunitet na ždrebećak nakon oporavka od bolesti (Todd, 1910.; Hamlen i sur., 1994.). Konji su u ranom stadiju rekonvalescencije otporni na puno veću dozu streptokoka u odnosu na primljive konje koji nisu preboljeli bolest (Galan i Timoney, 1985.). Međutim oko 25% konja od ovih 75% nakon nekoliko mjeseci opet

postaje primljivije za infekciju, zbog smanjivanja količine mukoznih i sistemskih protutijela. Mlijeko kobila koje su se oporavile od ždrebećaka sadrži imunoglobuline Gb (IgGb) i imunoglobuline A (IgA) sa specifičnostima sličnim onima pronađenim u nazofaringealnoj sluzi rekonvalescentnih konja (Galan i sur., 1986.). Ždrebad koja sisa stoga ima koristi od zaštitnih učinaka ovih protutijela do odbića od majke. Također se pokazalo da kolostralna protutijela progutana tijekom prva 24 sata života ponovno cirkuliraju u sluznicu nazofarinksa, pružajući tako dodatan izvor zaštite ždrebeta tijekom njegovih prvih tjedana života. Dakle ždrebad koja siše kobilje mlijeko, imuna je na *S. equi* do odbića.

Visoka kontagioznost ždrebećaka zahtjeva provođenje strogih biogurnosnih mjera u sprječavanju i suzbijanju bolesti. Poželjno je izbjegavati predisponirajuće čimbenike za širenje bolesti poput prenapućenosti i miješanja jedinki različitih dobnih skupina. Zgrade i oprema bi trebali biti redovito očišćeni i dezinficirani (Quinn i sur., 2011.). Konje treba staviti u karantenu na dva tjedna kad se uvode ili vraćaju na imanje (Quinn i sur., 2011.), no karantena nije u potpunosti pouzdana metoda spriječavanja širenja bolesti zbog potencijalnih asimptomatskih kliconoša te je zbog toga važno napraviti detaljan klinički pregled koji uključuje endoskopsku pretragu ukoliko želimo biti sigurni da je životinja zdrava. Većinu novih epizootija pokreću konji u fazi inkubacije ili rekonvalescencije. Mjere kontrole za ograničavanje zaraze i smanjenje komplikacija te morbiditeta moraju uključivati brzu identifikaciju i odvajanje zaraženih životinja. Klinički sumnjive životinje treba što prije izolirati uz svakodnevno promatranje, te dnevno mjerenje rektalne temperature konja koji su bili u kontaktu s bolesnima kako bi se odmah mogli odvojiti ako je primijećena povišena temperatura (Timoney, 2004.), s obzirom da se ona javlja prije nego krene izlučivanje uzročnika (Boyle i sur., 2018.). Također je važna redovita kontrola u obliku bakteriološke pretrage ili PCR nazalnih briseva ili ispiraka kod životinja u procesu oporavka (Timoney, 2004.). Adekvatna kontrola ne može se postići bez prepoznavanja inaparentnih kliconoša i primjene odgovarajućih metoda za njihovo otkrivanje i liječenje (Waller, 2011.).

2.3. *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*

S. zooepidemicus je beta-hemolitički streptokok grupe C koji se smatra komenzalom na sluznicama usne šupljine, ždrijela i respiratornog sustava konja (Waller i sur., 2005.). Uzrokuje bolesti kao oportunistički patogen respiratornog sustava kao što su rinitis, bronhitis i pneumonija te reproduktivnog sustava poput endometritisa (Li i sur., 2021.), toplinskog stresa

ili ozljede tkiva (Hong i sur., 1993,: Oikawa i sur., 1994.; Brooks i sur., 2000.; Smith i sur., 2003,; Timoney, 2004.; Wood i sur., 2005.; Webb i sur., 2008.). Ovaj mikroorganizam je najčešći uzročnik infekcija različitih organskih sustava konja. Podudarnost DNK vrsta *S. zooepidemicus* i *S. equi*, iznosi 98%. Mikrobiološki se ove vrste mogu razlikovati po sposobnosti fermentacije laktoze i sorbitola, ali ne i trehaloze. Populacija sojeva *S. zooepidemicus* iznimno je raznolika kao što je istaknuto određivanjem sljedova na više genskih lokusa (engl. *multilocus sequence typing,* MLST) (Webb i sur., 2008.). Ova shema trenutno razlikuje 279 različitih sojeva *S. zooepidemicus*, uključujući dvije vrste *S. equi* koje spadaju u istu shemu genetske tipizacije. Prisutnost gena koji kodiraju super antigene bila je značajno povezana s izolacijom iz apscesa limfnih čvorova nevezanih za ždrebećak što sugerira da se sojevi *S. zooepidemicus* razlikuju u potencijalu uzrokovanja bolesti. Za neke genetski srodne skupine *S. zooepidemicus* također je značajno veća vjerojatnost da su izolirane iz respiratornog sustava, a za druge iz slučajeva endometritisa i pobačaja (Webb i sur., 2008.). Izolati iz tonzila i ždrijela konja obično pokazuju manju inkapsulaciju od *S. equi*. To može biti posljedica smanjene aktivnosti hijaluronatne liaze od *S. equi* (Lindsay i sur., 2009.). Aktivnost hijaluronatne liaze može pojačati diseminaciju nekih tkiva kod nekih sojeva *S. zooepidemicus*. *S. zooepidemicus* povezan je s nekoliko kliničkih sindroma kod konja. Uzrokuje endometritis kod kobila (Li i sur., 2021.) i jedan je od najčešćih uzroka infektivnog pobačaja i placentitisa (Hong i sur., 1993.; Smith i sur., 2003.), što rezultira značajnim godišnjim gubicima u industriji. *S. zooepidemicus* najčešće je izdvajana bakterija iz konja s upalom pluća (Lavoie i sur., 1994.; Widders i sur., 1995.; Bade i sur., 2009.) i transportnom groznicom (Oikawa i sur., 1994.). Sve je više dokaza o bliskoj povezanosti s ponovljenim infekcijama dišnog sustava kod mladih životinja do 3 ili 4 godine i upalom donjih dišnih puteva kod ždrebadi i čistokrvnih konja u treningu (Wood i sur., 2005a.; Wood i sur., 2005b.). Odabir antimikrobne tvari ovisit će o mjestu i težini infekcije te prisutnosti komorbiditeta, no u slučaju monoinfekcija najčešće je indicirana uporaba penicilina. Prevencija bolesti konja uzrokovanih bakterijom *S. zooepidemicus* teška je zbog oportunističke prirode infekcije. Kontrola se najbolje postiže smanjenjem stresa i odgovarajućim i brzim liječenjem predisponirajućih medicinskih stanja ili stresora poput virusnih infekcija, transporta, nakupljanja tekućine u maternici. Imunizacija kobila bakterijskim ekstraktima daje određenu otpornost na endometritis uzrokovan ovim mikroorganizmom (Widders i sur., 1995.). Međutim, razvoj cjepiva za prevenciju infekcije bit će složen zbog raznolikosti uobičajenih sojeva, oportunističke prirode infekcije i mogućnosti razvoja glomerulonefritisa povezanog sa stvaranjem imunih kompleksa (Divers i sur., 1992.; Webb i sur., 2008.). Brojna su izvješća o infekcijama ljudi sa *S. zooepidemicus* (Balter i sur.,

2000.; Downar i sur., 2001.; Hashikawa i sur., 2004.; Abbott i sur., 2010.), poput onog o epidemiji glomerulonefritisa povezanoj s konzumacijom nepasteriziranog mlijeka i proizvoda od sira kontaminiranih sa *S. zooepidemicus* (Balter i sur., 2000.). Također postoje izvješća o bakterijemiji, meningitisu i artritisu uzrokovanom sa *S. zooepidemicus* (McKeage i sur., 1990.; Ortel i sur., 1990.; Bradley i sur., 1991.; Berenguer i sur., 1992.; Collazos i sur., 1992.; Abbot i sur., 2010.; Rajasekhar i Clancy, 2010.). *S. zooepidemicus* je vrlo ozbiljan zoonotski patogen ljudi, inficiranih u kontaktu s konjima. Unatoč izvješćima i dalje se smatra rijetkom zoonozom, osobito kad se uzme u obzir učestalost ljudske izloženosti uzročniku (Waller i sur., 2005.). S obzirom na različitu antigenost *S. zooepidemicus* i oportunističku prirodu infekcija koje uzrokuje, bit će teško razviti cjepiva i donijeti preporuke za cijepljenje (Timoney, 2004.). Dodatni problem u razvoju cjepiva predstavlja rizik od glomerulonefritisa povezanog s kompleksima streptokoknih proteina i specifičnih protutijela (Anzai i sur., 2005.).

Iako se *S. zooepidemicus* smatra oportunističkim patogenom kod velikog broja sisavaca, uključujući mačke, glodavce, kune, majmune i tuljane (Literak i Mraz, 1991.; Akineden i sur., 2005., 2007.; Matz-Rensing i sur., 2009.; Blum i sur., 2010.; Ryu i sur., 2011.), većina slučajeva zabilježena je kod domaćih životinja, kao što su konji, svinje i preživači. Kod konja *S. zooepidemicus* predstavlja komenzal sluznice gornjeg dišnog i donjeg genitalnog trakta (Barquero i sur., 2010.; Priestnall i Erles, 2011.). Kao oportunistički patogen može izazvati sekundarne infekcije nakon primarne virusne infekcije, kao i nakon stresa ili ozljede tkiva (Timoney, 2004.; Ryu i sur., 2011.). Ipak, u nekoliko epidemioloških istraživanja utvrđeno je da je *S. zooepidemicus* glavni uzročnik gnojnih infekcija u konja i ždrebadi (Clark i sur., 2008.; Gaede i sur., 2010.; Panchaud i sur., 2010.; Ryu i sur., 2011.; Erol i sur., 2012.). Tipično, takve infekcije dovode do teških respiratornih bolesti s iznenadnom dispnejom i hemoragičnim iscjetkom iz nosa popraćenim pireksijom, kašljem, leukocitozom i neutrofilijom (Oikawa i sur., 1994., 1995.; Priestnall i Erles, 2011.). Nadalje, diseminacija *S. zooepidemicus* u unutarnjim organima, kao što su jetra, pluća, mozak i bubrezi te zglobovi (Timoney, 2004.), često rezultira kliničkim znakovima koji se sastoje od neonatalne septikemije, piogenih apscesa, ulceroznog keratitisa i endometritisa s neuspjelim pripustima odnosno začećem (Timoney, 2004.; Priestnall i Erles, 2011.; Wada, 2012.). Naime *S. zooepidemicus* se pojavljuje kao uzročnik teških i po život opasnih bolesti pasa (Pesavento i sur., 2008.; Byun i sur., 2009.; Priestnall i Erles, 2011.). Za razliku od infekcija kod konja, nove infekcije pasa (Mangano i sur., 2024.), često se javljaju kao veća izbijanja bolesti. Klinička slika slična je onoj kod konja. Nekoliko je istraživanja izvjestilo da se smrtonosna izbijanja bolesti pojavljuju u obliku hemoragične pneumonije i

septikemije, s brzim napredovanjem bolesti (Sundberg i sur., 1981.; Garnett i sur., 1982.; Kim i sur., 2007a., 2007b.; Pesavento i sur., 2008.; Byun i sur., 2009.; Priestnall i Erles, 2011.), koja često završava fatalno unutar 24 do 48 sati. U blažim slučajevima tipični simptomi su pireksija, kašalj, anoreksija i tahipneja. Uz *S. suis*, *S. zooepidemicus* je glavni patogen kod svinja (Costa i Lage, 2020.; Hau i sur., 2022.) u Aziji. Izbijanja su zabilježena u Sichuanu, Kini (1975.) i Indoneziji (1994.) sa smrtnim slučajevima više od 300 000 svinja u 2 tjedna. Tipični klinički simptomi uključuju artritis, proljev, bronhopneumoniju, endokarditis i meningitis (Soedarmanto i sur., 1996.; Fan i sur., 2008.; Feng i sur., 2010.). Zanimljivo je da se tijekom velike epidemije u Indoneziji jedan vrlo virulentni klon *S. zooepidemicus* proširio na populaciju majmuna i doveo do teške bolesti slične opisanoj na svinjama (Soedarmanto i sur., 1996.). Ozbiljne infekcije dubljih dijelova tkiva primijećene su kod preživača kao što su koze, ovce, goveda, ljame, deve i alpake (Barnham i sur., 1987.; Aubry i sur., 2000.; Hewson i Cebra, 2001.; Younan i sur., 2005.; Jones i sur., 2009.; Pisoni i sur., 2009.). Međutim, većina izvješća usredotočena je na njegovu ulogu kao uzročnika mastitisa (Kabelitz i sur., 2021.).

2.4. *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*

S. equisimilis je beta-hemolitički streptokok, skupine C po Lancefieldovoj, genetski se razlikuje od *S. equi* i *S. zooepidemicus* (Timoney, 2004.). Značajan je zoonotski patogen koji može uzrokovati različite bolesti kod ljudi i životinja, uključujući infekcije mekih tkiva, septikemiju i endokarditis. Široko je rasprostranjen i može biti dio normalne mikroflore kod ljudi i životinja, ali također može izazvati ozbiljne infekcije. Često se nalazi u gornjim dišnim putevima i spolnom sustavu kod ljudi i životinja. Infekcije uzrokovane sa *S. equisimilis* češće su kod starijih osoba i onih s oslabljenim imunološkim sustavom. *S. equisimilis* može uzrokovati teške bolesti kod ljudi, uključujući bakterijemiju i nekrotizirajući fascitis (Kaci i sur., 2023.). Kod konja, može uzrokovati različite infekcije, uključujući respiratorne bolesti, apscese i endometritis (Smith i sur., 2003; Erol i sur., 2012.). Infekcije su češće kod konja koji su pod stresom ili imaju oslabljen imunološki sustav. *S. equisimilis* može biti značajan patogen kod konja, osobito u velikim uzgojima gdje se bolest može brzo širiti (Smith i sur., 2003.). Infekcija se često manifestira kao gnojni rinitis, faringitis i limfadenitis. *S. equisimilis* posjeduje brojne virulencijske faktore koji omogućuju kolonizaciju i invaziju domaćina. Istraživanje iz 2018. godine pokazalo je da koristi proteine slične M proteinima za vezanje na epitelne stanice domaćina, čime si olakšava invaziju i izbjegavanje imunološkog odgovora domaćina (Flores i

sur., 2018.). Također, proizvodi egzotoksine koji mogu uzrokovati oštećenje tkiva i poticati upalni odgovor. Dijagnostika uključuje uzgoj i identifikaciju bakterija iz uzoraka zaraženog tkiva ili sekreta. PCR metoda može se koristiti za brzu i preciznu identifikaciju. Liječenje obično uključuje antibiotike kao što su penicilin i cefalosporini, ali je važno provesti antibiogram kako bi se osigurala učinkovitost terapije. Prevencija infekcija kod konja uključuje stroge higijenske mjere, karantenu novih životinja i redovite veterinarske preglede. Cijepljenje može biti korisno u smanjenju rizika od infekcija, osobito u velikim uzgojima (Williams i sur., 2020.).

2.5. Beta-hemolitički streptokoki konja kao uzročnici zoonoza

Zoonotske streptokokne infekcije zanemarivane su unatoč činjenici da su učestalost i ozbiljnost izbijanja dramatično porasle. To može biti zbog neprecizne identifikacije vrsta streptokoka jer se u medicinskim bakteriološkim dijagnostičkim laboratorijima ne koriste uvijek metode sposobne diferencirati pojedine vrste. S druge strane, rastuća populacija ljudi popraćena sve većom potražnjom za hranom i povećanim brojem kućnih ljubimaca pogoduje uvjetima za prilagodbu životinjskih streptokoka na novog domaćina (Fulde i Weigand, 2013.). Infekcije uzrokovane streptokokima dobile su malo pozornosti u istraživanju zoonoza. Budući da su streptokoki sami po sebi klasificirani kao fakultativni patogeni, gotovo sve endotermne i mnoge poikilotermne vrste kao i ljudi, nose barem jednu vrstu streptokoka kao komenzala na površini kože i/ili sluznice (Facklam, 2002.). Loša higijena, sekundarne infekcije ili stanje imunodeficijencije često rezultiraju streptokokozom prirodnog domaćina, dok se čini da je prijelaz između vrsta prilično rijedak. Obično zoonotske infekcije uzrokovane streptokokima ne rezultiraju prijavljenim epidemijama ili pandemijama, ali mogu dovesti do teških i po život opasnih bolesti pojedinaca (Galperine i sur., 2007.; Lam i sur., 2007.; Lun i sur., 2007,; Baiano i Barnes, 2009.; Abbot i sur., 2010.; Gosai i sur., 2023.). S druge strane prijavljena su izbijanja koja su bila povezana s visoko virulentnim sojevima zoonoza poput *S. zooepidemicus* u Brazilu 1997./98. godine. Srećom takva izbijanja nisu uzrokovana prijenosom s čovjeka na čovjeka, već su ograničena na infekcije kontaminiranom hranom ili bliskim kontaktom sa zaraženim životinjama (Balter i sur., 2000.; Tang i sur., 2006.; Chen i sur., 2007.). To sugerira da zoonotski streptokoki nisu dobro prilagođeni ljudskom domaćinu. Široka rasprostranjenost streptokoknih vrsta i nepotpuna karakterizacija kliničkih izolata na razini vrste otežavaju predviđanje zoonotskog potencijala određenih vrsta (Facklam, 2002.). Nadalje, tipizacija po Lancefieldovoj

nije dovoljna za razlikovanje zoonotskih streptokoka. Diferencijacija ovih vrsta vrši se biokemijski na temelju ispitivanja sposobnosti fermentacije izvora karbonata specifičnih za vrstu. *S. equisimilis* može fermentirati trehalozu, dok *S. equi* i *S. zooepidemicus* ne mogu, a *S. zooepidemicus* fermentira laktozu i sorbitol za razliku od *S. equisimilis* i *S. equi* (Fulde i Weigand, 2013.). Epidemije kod ljudi povezane su s nepasteriziranim mlijekom i proizvodima od mlijeka (Bosica i sur., 2023.). Dva izbijanja dogodila su se 2003. godine u Gran Canariji i Finskoj (Bordes-Benitez i sur., 2006.; Kuusi i sur., 2006.). U oba slučaja izvor zaraze bio je sir proizveden od sirovog mlijeka. U ljudi su opisane septikemije, aneurizme aorte, upale pluća, meningitisa i septičnog artritisa (Gosai i sur., 2023.), s mogućim smrtnim ishodom. Posebna komplikacija je razvoj poststreptokoknog glomerulonefritisa (Barnham i sur., 1983., 1987.; Francis i sur., 1993.). Jedna neobično velika epidemija dogodila se od 1997. godine do 1998. godine u ruralnoj pokrajini u Brazilu (Balter i sur., 2000.), gdje je također sir napravljen s kontaminiranim mlijekom bio izvor infekcije. Ukupno je bilo prijavljeno 253 slučaja akutnog nefritisa od kojih su tri imala fatalnu progresiju, a sedam ih je zahtijevalo dijalizu. Napravljena su opsežna istraživanja uključujući sekvenciranje cijelog genoma dotičnog soja, međutim čimbenici koji su glavni krivci za razvoj poststreptokoknog glomerulonefritisa ostaju nepoznati (Nicholson i sur., 2000.; Sesso i Pinto, 2005.; Beres i sur., 2008.). Prijenos *S. zooepidemicus* sa kućnih ljubimaca na ljude često je opisan u literaturi. Većina slučajeva potječe od konja vjerojatno zbog široke rasprostranjenosti *S. zooepidemicus* kao komenzala na ovoj vrsti životinje (Minces i sur., 2011.). Opisan je i jedan slučaj prijenosa sa psa na čovjeka (Abbott i sur., 2010.). U ovom slučaju vjerojatan način prijenosa bio je putem infekcije rane ili aerosola, a ne gutanjem. Tipični klinički simptomi kod ljudi kreću se od gnojnih apscesa kože i sluznica do teških bolesti, kao što su endokarditis, endoftalmitis, septični artritis, upala pluća i meningitis (Gosai i sur., 2023.) Klinički ishod ovisi o načinu prijenosa, imunitetu domaćina i čimbenicima virulencije patogena (Fulde i Weigand, 2013.). Opisan je također i slučaj meningoencefalitisa kod 69-godišnjeg muškarca uzrokovanog sa *S. equi*, što je četvrta prijavljena infekcija koja je zahvatila središnji živčani sustav kod ljudi do 2021. godine. Invazivnost ovih bakterija, poznatih po oslobađanju snažnih imunogenih egzotoksina, ilustrirana je lezijama bijele tvari prisutnim u akutnoj fazi. Pacijent se inicijalno dobro oporavio nakon liječenja antibioticima i glukokortikoidima. Međutim, je ponovno zaprimljen u bolnicu pet mjeseci kasnije s višestrukim intraparenhimskim cerebralnim krvarenjima. Cerebralna angiografija potvrdila je prisutnost sumnjive površinske duralne arteriovenske fistule, koja je rijetko prijavljena nakon infekcije središnjeg živčanog sustava (Kerstens i sur., 2021.). *S. zooepidemicus* je rijedak uzročnik bakterijskog meningitisa kod ljudi. Bolest se prenosi bliskim kontaktom s domaćim

životinjama, uglavnom konjima. Do srpnja 2023. godine u literaturi je zabilježeno samo 37 slučajeva meningitisa uzrokovanog *S. zooepidemicus*. Jedno od istraživanja prikazuje rijedak klinički slučaj meningitisa povezanog sa *S. zooepidemicus* kod pacijenta s virusom humane imunodeficijencije (Argirova i sur., 2023.). Riječ je o 23-godišnjem uzgajivaču konja s uznapredovalom imunodeficijencijom zbog, kojem je dijagnosticiran meningitis uzrokovan sa *S. zooepidemicus* u Klinici za infektivne bolesti, Sveučilišne bolnice Sv. George, Plovdiv. Tijek meningitisa bio je ozbiljan od samog početka, sa značajnim cerebralnim edemom, poremećajima svijesti, trajno povišenom temperaturom i razvojem komplikacija zbog stanja povezanih s virusom humane imunodeficijencije. *S. zooepidemicus* je izdvojen iz cerebrospinalne tekućine. Nakon dugotrajnog bolničkog liječenja, stanje pacijenta se poboljšalo te je na kraju otpušten iz bolnice i oporavio se od akutne neuroinfekcije. To je bio prvi opisani slučaj meningitisa uzrokovanog vrstom *S. zooepidemicus* kod pacijenta s virusom humane imunodeficijencije (Argirova i sur., 2023.). Iako je izuzetno rijedak, *S. zooepidemicus* treba uzeti u obzir kod pacijenata s kliničkim i laboratorijskim dokazima bakterijskog meningitisa koji su u kontaktu sa životinjama, posebno konjima, drugim domaćim životinjama i njihovim mliječnim proizvodima, kao i kod imunokompromitiranih pacijenata. Bohlman i sur. (2023.) opisuju bolest sedamdesetogodišnje žene zaprimljene na hitni prijem s kliničkim znakovima povišene temperature, tremora, mučnine i kašlja. Pacijentica je dva dana ranije bila na kolonoskopiji bez značajne medicinske povijesti. Na kompjuteriziranoj tomografiji se vidjela prisutnost pneumonije, a rezultati bakteriološke pretrage bili su pozitivni na *S. equi*. Pacijentica je kasnije saznala da joj je konj naglo uginuo šest dana prije njenog dolaska na hitni prijem. Bila je u bliskom kontaktu s konjem prije njegove smrti. Pacijentica je liječena intravenski piperacilin-tazobaktamom tijekom boravka u bolnici, a kasnije je prebačena na oralne antibiotike. Naknadne bakteriološke pretrage krvi bile su negativne, što je ukazivalo na uspješno liječenje bakteremije. Ovaj izvještaj opisuje atipični oblik infekcije *S. equi* kod inače zdrave osobe, koja se manifestirala kao sepsa, pneumonija i bakterijemija. Pacijentica je vjerojatno razvila infekciju nakon izravnog kontakta s konjem koji je umro od pretpostavljenog ždrebećka nekoliko dana prije nego što su se pojavili klinički znakovi. Ovaj slučaj naglašava važnost istraživanja potencijalne izloženosti *S. equi* u ruralnim područjima, posebno među osobama koje rade s konjima. Posebno je važno uočiti rizične populacije kao što su imunokompromitirane osobe sa znakovima meningitisa ili bakteremije (Bohlman i sur., 2023.)

2.6. Antimikrobna osjetljivost beta-hemolitičkih streptokoka izdvojenih iz konja

S obzirom da su beta-hemolitički streptokoki značajni patogeni u konja, koji mogu uzrokovati niz infekcija, razumijevanje njihove antimikrobne osjetljivosti ključno je za učinkovito liječenje i smanjenje pojave rezistencije na antibiotike. Johnson i sur. (2012.) proveli su istraživanje na uzorcima uzetim iz različitih geografskih regija kako bi se utvrdile moguće razlike u antimikrobnoj osjetljivosti. Rezultati su pokazali da, iako su svi izolati bili osjetljivi na beta-laktamske antibiotike, postojala je značajna rezistencija na makrolide u određenim regijama, što je pripisano učestaloj primjeni ovih antibiotika u veterinarskoj praksi. Martinez i sur. (2020.) proveli su istraživanje u različitim dijelovima Europe na konjima s različitim kliničkim manifestacijama, uključujući respiratorne bolesti i apscese. Rezultati su pokazali visoku osjetljivost na beta-laktamske antibiotike, no značajnu rezistenciju na kinolone. Autori su zaključili da je neophodno provoditi lokalna istraživanja osjetljivosti s obzirom na geografske razlike u pojavi rezistencije. Garcia i sur. (2019.) radili su istraživanje fokusirano na obriscima iz nazofarinksa konja. Najznačajniji rezultati ukazali su na gotovo univerzalnu osjetljivost na penicilin i minimalnu rezistenciju na makrolide, dok su fluorokinoloni pokazali promjenjivu učinkovitost, s otpornošću zabilježenom u određenim regijama. U Istraživanju od strane Lord i sur. (2022.) u Kentuckey-u, Sjedinjenim Američkim Državama velika većina izolata *S. zooepidemicus* (99,6%) bila je otporna na najmanje jednu antimikrobnu tvar. Otprilike polovica (53,3%) izolata *S. zooepidemicus* bila je multirezistentna. Otpornost na penicilin, koji se obično preporučuje za liječenje infekcija *S. zooepidemicus*, također se povećala tijekom razdoblja istraživanja (2012.-2017.), s 3,3% na 9,5%. Povećanje antimikrobne rezistencije među izolatima *S. zooepidemicus* je zabrinjavajuće.

Rezultati ovog istraživanja naglašavaju važnost kontinuiranog praćenja antimikrobne rezistencije zbog uspješnijeg liječenja i budućih istraživanja (Lord i sur., 2022.). Također u Italiji je opisana antimikrobna rezistencija na amoksicilin-klavulanat, ampicilin, amikacin, gentamicin, streptomicin, enrofloksacin, sulfametoksazol-trimetoprim, tetraciklin, oksitetraciklin u 13 od 22 uzorka (59,1%) uzetih za analizu u kliničkim slučajevima endometritisa kod kobila (Nocera i sur., 2024.).

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Uzorci i identifikacija bakterija

U istraživanju su analizirani arhivski podaci Laboratorija za dijagnostiku bakterijskih bolesti konja Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, prikupljeni u razdoblju od 2013. do 2022. godine. Podaci su prikupljeni iz nalaza bakterioloških pretraga različitih kliničkih uzoraka konja sa područja Republike Hrvatske. Za svaki uzorak, koliko je bilo dostupno, zabilježen je podatak o organskom sustavu iz kojeg potječe. Uzorci su obrađeni prema standardnim bakteriološkim protokolima nacjepljivanjem na hranjive podloge s dodatkom ovčje krvi. Ploče su inkubirane u aerobnim uvjetima pri 37 °C tijekom 24 do 48 sati. Izdvojeni BHS identificirani su do razine roda na temelju kulturelnih i morfoloških svojstava te odsutnosti tvorbe katalaze, a vrste streptokoka identificirane su komercijalnim biokemijskim sustavom (API, bioMerieux, Francuska) i/ili masenom spektrometrijom laserske desorpcije/ionizacije potpomognute matricom (engl. Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS).

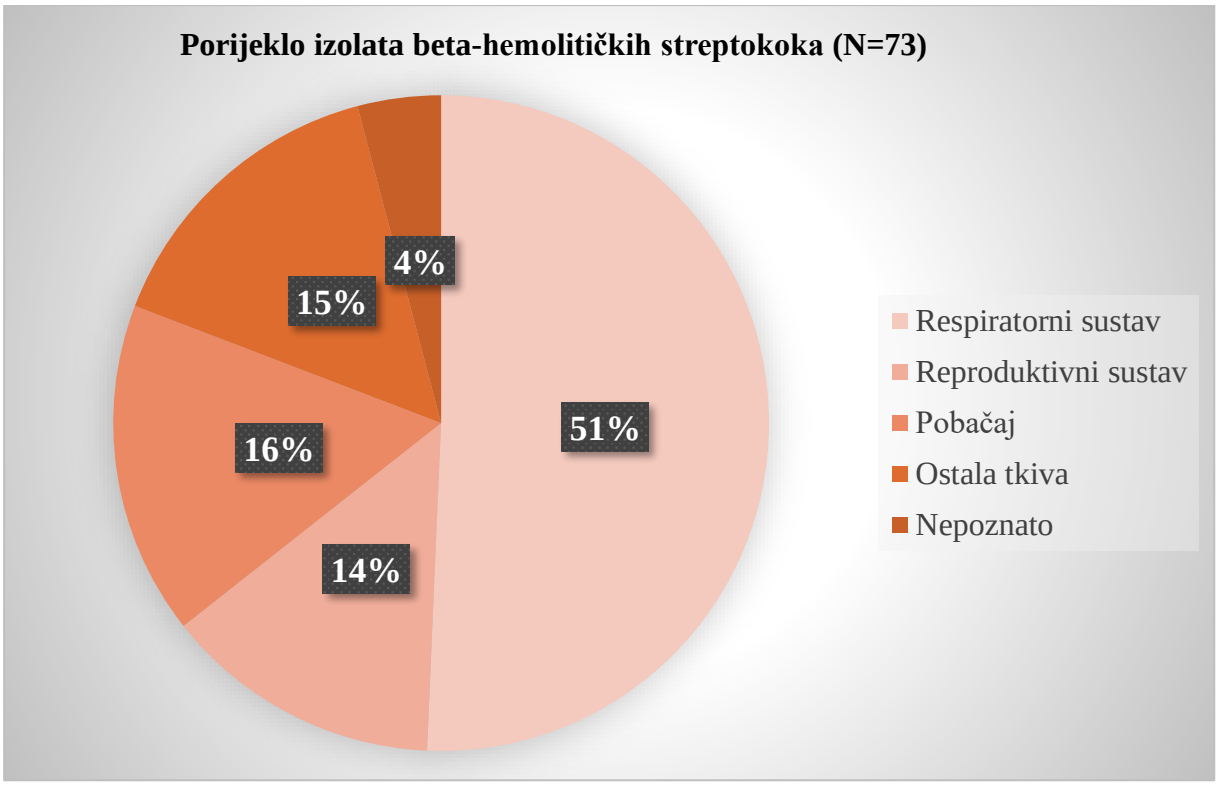
3.2. Određivanje antimikrobne osjetljivosti

Osjetljivost bakterija na antimikrobne tvari određena je disk-difuzijskim postupkom po Kirby-Baueru, izvedenim prema smjernicama Instituta za standarde klinika i laboratorija (CSLI, 2015.) i Europskog odbora za testiranje osjetljivosti (EUCAST, 2020.). Postupak se provodi na način da je na površinu hranjive podloge (Mueller-Hintonov agar, MHA) s dodatkom ovčje krvi nacijepljena suspenzija čiste bakterijske kulture u zadanoj gustoći, nakon čega su na podlogu stavljeni papirnati diskovi natopljeni određenom koncentracijom pojedine antimikrobne tvari. Osjetljivost izdvojenih izolata ispitana je za slijedeće antimikrobne tvari: penicilin, ceftiofur, enrofloksacin, trimetoprim/sulfametoksazol, eritromicin i gentamicin. Nacijepljene podloge su nakon stavljanja diskova inkubirane pri 37 °C tijekom 18 sati, a potom su izmjereni promjeri zona inhibicije rasta bakterija. Rezultat je interpretiran prema smjernicama CSLI, (2015.) i EUCAST, (2020.) kao: osjetljiv (S), osjetljiv uz povećanu izloženost (I) i rezistentan (R).

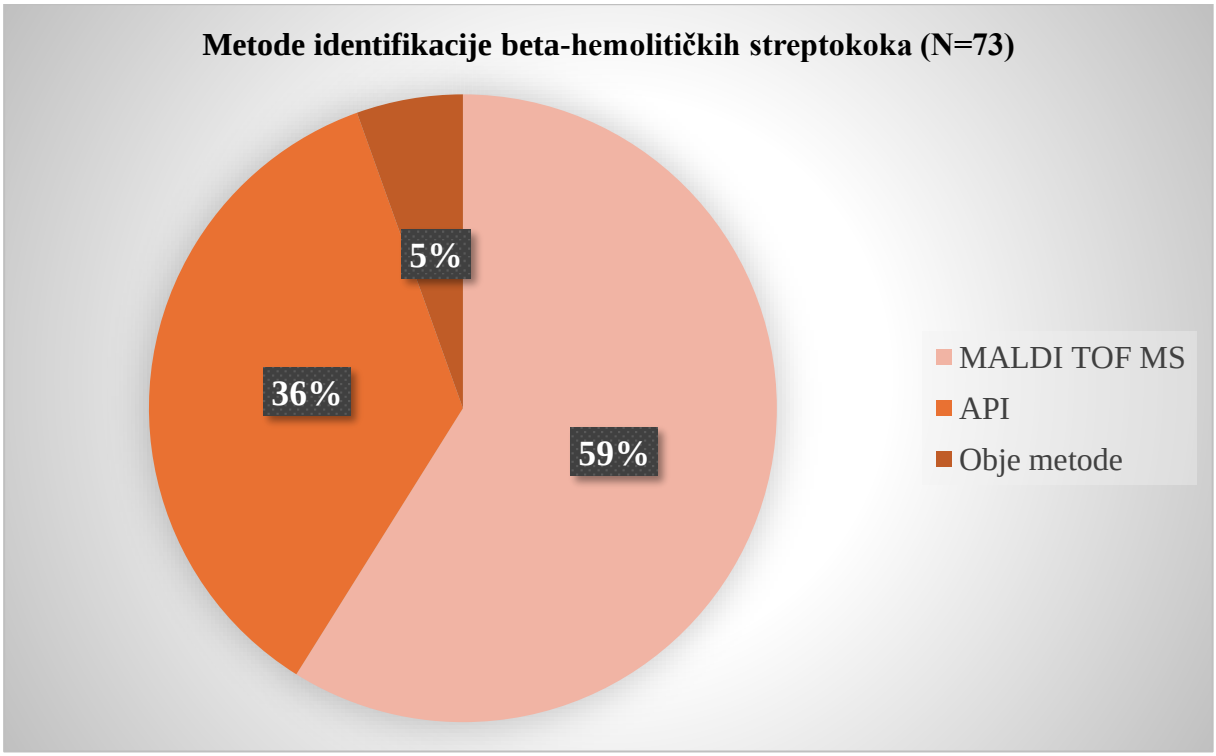
4. REZULTATI

4.1. Prevalencija i vrste beta-hemolitičkih streptokoka

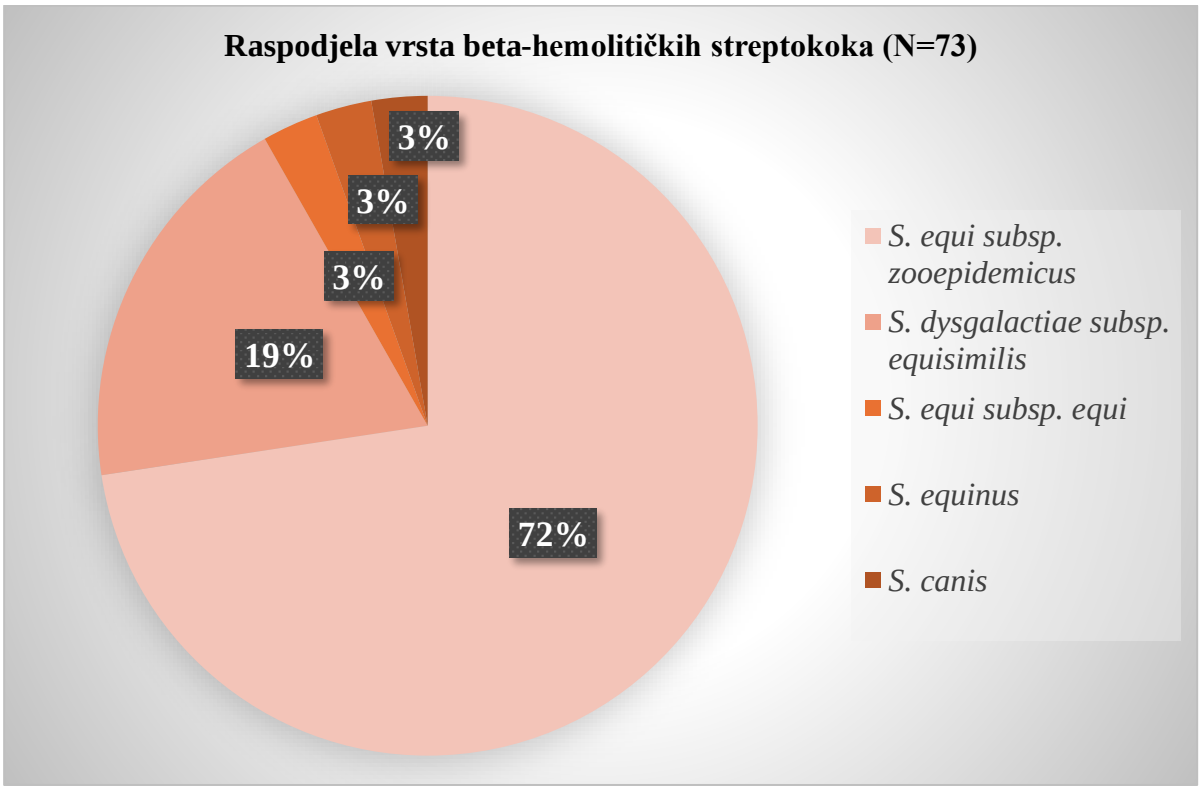
U devetogodišnjem razdoblju (2013.-2022.) Laboratorij za dijagnostiku bakterijskih bolesti konja Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, zaprimio je 803 klinička uzorka porijeklom iz konja. Od 803 uzoraka, 219 (27,3%) bilo je porijeklom iz respiratornog sustava, 244 (30,4%) bilo je iz reproduktivnog sustava, 129 (16,1%) iz uzoraka pobačenih fetusa i placenti, 116 (14,4%) iz gastrointestinalnog sustava (uglavnom feces), 73 (9,1%) iz tkiva (rane, apscesi, koža), a 22 (2,7%) uzorka bili su nepoznatog porijekla. Od 803 uzorka, njih 299 (37,2%) bilo je bakteriološki pozitivno. Od 299 pozitivna uzorka, iz njih 96 (32,1%) izdvojeni su beta-hemolitički streptokoki, a od toga je 73 (76%) izolata pohranjeno za daljnju analizu i uključeno u ovo istraživanje. Od 73 pohranjena izolata, 37 (50,7%) BHS-a bilo je porijeklom iz respiratornog sustava, 10 (13,7%) iz reproduktivnog sustava, 12 (16,4%) iz uzoraka pobačenih fetusa i placenti, 11 (15,1%) iz ostalih tkiva (rane, apscesi, koža) i 3 (4,1%) uzorka su bila nepoznatog podrijetla (Slika 3.). Vrste BHS bile su identificirane pomoću API testova (N=26), MALDI-TOF MS metode (N=23) ili pomoću obje metode (N=4) (Slika 4.). Raspodjela vrsta bila je sljedeća: 53 (72,6%) izolata pripadala su vrsti *S. zooepidemicus*, 14 (19,2%) izolata vrsti *S. equisimilis*, 2 (2,7%) izolata vrsti *S. equi*, 2 (2,7%) izolata vrsti *S. equinus* i 2 (2,7%) izolata vrsti *S. canis* (Slika 5.). Većina izolata vrste *S. zooepidemicus* (55%) bila je porijeklom iz respiratornog sustava, 17% bilo je iz reproduktivnog sustava, 13% iz uzoraka pobačenih fetusa i placenti, 11% iz ostalih tkiva te 4% iz uzoraka nepoznatog porijekla (Slika 6.). Polovica izolata *S. equisimilis* porijeklom je bila iz respiratornog sustava (50%), dok je 14% izolata bilo porijeklom iz uzoraka pobačenih fetusa i placenti, 29% je potjecalo iz ostalih vrsta tkiva, a 7% je iz uzoraka nepoznatog porijekla (Slika 7.).



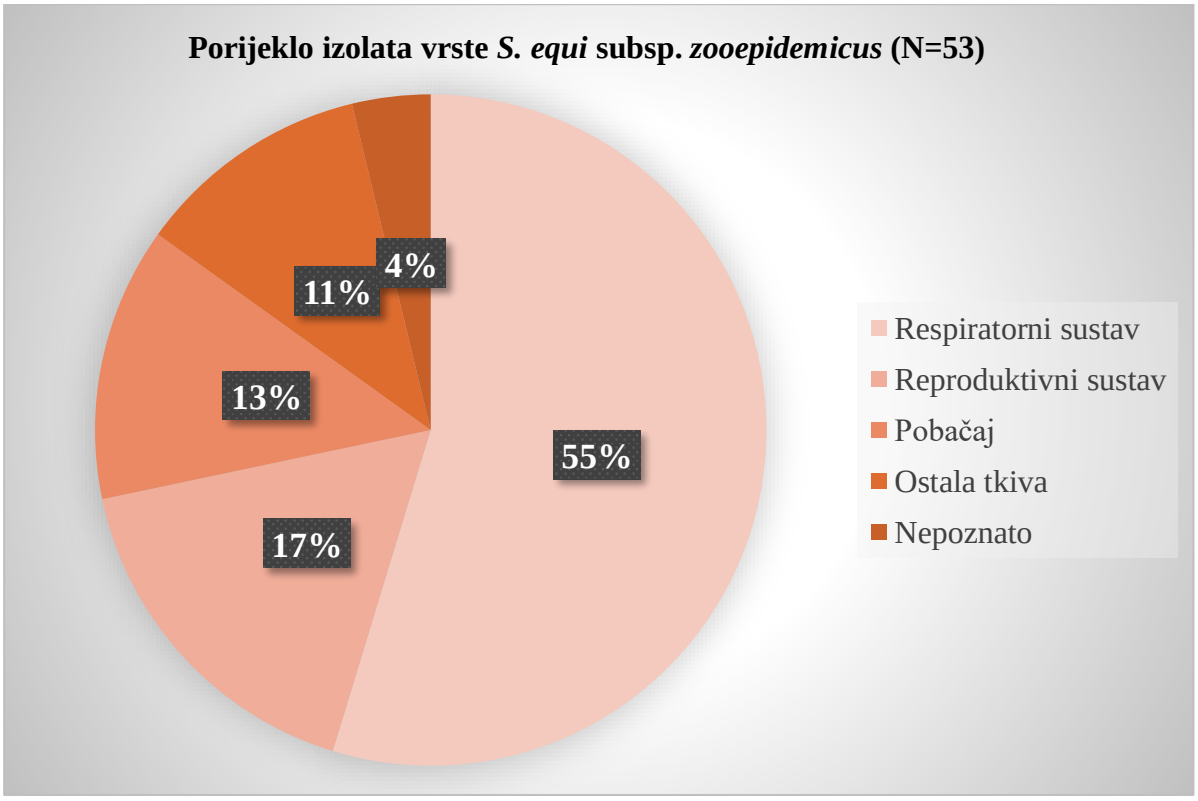
Slika 3. – Porijeklo izolata beta-hemolitičkih streptokoka



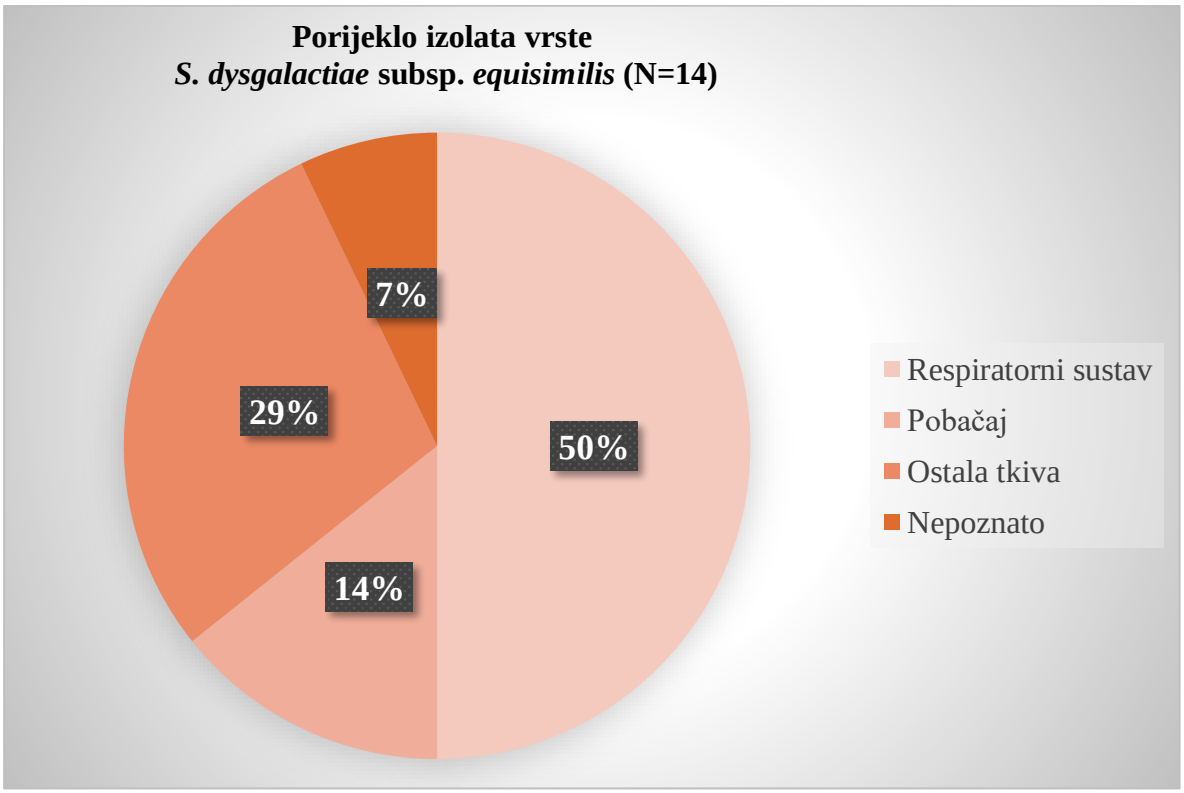
Slika 4. - Metode identifikacije beta-hemolitičkih streptokoka



Slika 5. – Raspodjela vrsta beta-hemolitičkih streptokoka



Slika 6. – Porijeklo izolata vrste *S. equi* subsp. *zooepidemicus*



Slika 7. – Porijeklo izolata vrste *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*

4.2. Antimikrobna osjetljivost beta-hemolitičkih streptokoka

Svi izolati *S. zooepidemicus* (N=53) bili su osjetljivi na penicilin, eritromicin, gentamicin i ceftiofur. Na trimetoprim/sulfametoksazol je bio osjetljiv 51 (96,2%) izolat, a na enrofloksacin 39 (73,6%) izolata.

Svi izolati *S. equisimilis* (N=14) bili su osjetljivi na penicilin, ceftiofur i gentamicin. Na trimetoprim/sulfametoksazol i eritromicin bilo je osjetljivo 13 (92,9%) izolata, a na enrofloksacin jedan (7,1%) izolat.

Oba izolata *S. equi* bila su osjetljiva na svih šest antimikrobnih tvari.

Oba izolata *S. equinus* bila su osjetljiva na penicilin, ceftiofur, eritromicin i gentamicin dok su na enrofloksacin i trimetoprim/sulfametoksazol bili umjereno osjetljivi.

Oba izolata *S. canis* bila su osjetljiva na penicilin, ceftiofur, trimetoprim/sulfametoksazol i gentamicin. Na enrofloksacin su oba izolata bila umjereno osjetljiva dok je na eritromicin jedan izolat (50%) bio osjetljiv.

Rezultati su skupno prikazani u tablicama 1. i 2.

Tablica 1. Antimikrobna osjetljivost *S. equi, S. zooepidemicus* i *S. equisimilis* na penicilin, ceftiofur i enrofloksacin

ANTIMIKROBNE TVARI

	N	**PENICILIN**			**CEFTIOFUR**			**ENROFLOKSACIN**		
VRSTE BHS		N (%) S	N (%) I	N (%) R	N (%) S	N (%) I	N (%) R	N (%) S	N (%) I	N (%) R
S. dysgalactiae subsp. *equisimilis*	14	14 (100)	0 (0)	0 (0)	14 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (7,1)	13 (92,9)	0 (0)
S. equi subsp. *equi*	2	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)
S. equi subsp. *zooepidemicus*	53	53 (100)	0 (0)	0 (0)	53 (100)	0 (0)	0 (0)	39 (73,6)	14 (26,4)	0 (0)
S. canis	2	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)
S. equinus	2	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)

Tablica 2. Antimikrobna osjetljivost *S. equi, S. zooepidemicus* i *S. equisimilis* na trimetoprim/sulfametoksazol, eritromicin i gentamicin

ANTIMIKROBNE TVARI

	N	**TRIMETOPRIM/SULFAMETOKSAZOL**			**ERITROMICIN**			**GENTAMICIN (120)**		
VRSTE BHS		N (%) S	N (%) I	N (%) R	N (%) S	N (%) I	N (%) R	N (%) S	N (%) I	N (%) R
S. dysgalactiae subsp. *equisimilis*	14	13 (92,9)	1 (7,1)	0 (0)	13 (92,9)	0 (0)	1 (7,1)	14 (100)	0 (0)	0 (0)
S. equi subsp. *equi*	2	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)
S. equi subsp. *zooepidemicus*	53	51 (96,2)	2 (3,8)	0 (0)	53 (100)	0 (0)	0 (0)	53 (100)	0 (0)	0 (0)
S. canis	2	2 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	0 (0)	1 (50)	2 (100)	0 (0)	0 (0)
S. equinus	2	0 (0)	2 (100)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)

5. RASPRAVA

U ovom istraživanju beta-hemolitički streptokoki izdvojeni su iz 32,1% bakteriološki pozitivnih uzoraka, dok su Duchesne i sur. (2019.) u svom istraživanju izdvojili 27,6% beta-hemolitičkih streptokoka. Erol i sur. (2012.) su u restrospektivnom istraživanju desetogodišnjeg razdoblja (2000-2010) iz 2391 uzoraka pozitivnih na BHS, identificirali 2497 izolata BHS, jer je iz dijela uzoraka izdvojeno više od jedne vrste streptokoka. Köhne i sur. (2024.) su od 772 slučaja endometritisa identificirali 707 (91,6%) beta-hemolitičkih streptokoka. U našem istraživanju od 73 pohranjena izolata BHS, 37 (50,7%) je bilo porijeklom iz respiratornog sustava, 10 (13,7%) iz reproduktivnog sustava, 12 (16,4%) iz uzoraka pobačenih fetusa i placenti, 11 (15,1%) iz ostalih tkiva (rane, apscesi, koža) i tri (4,1%) uzorka su bila nepoznatog podrijetla. Najčešće identificirana vrsta u našem istraživanju bila je *S. zooepidemicus*, kojoj je pripadalo 72,6% izdvojenih izolata BHS. Ovi rezultati su u skladu s literaturom, gdje je *S. zooepidemicus* također identificiran kao dominantna vrsta u infekcijama kod konja, poput istraživanja od strane Erol i sur. (2012.) gdje je taj postotak iznosio 72% te najnovijeg istraživanja Veiga i sur. (2024.) gdje je 70% izolata identificirano kao *S. zooepidemicus*. *S. equisimilis* druga je najčešće izdvojena vrsta (19,2%), koja je također često izdvojena iz respiratornog sustava. U istraživanju od strane Erol i sur. (2012.) *S. equisimilis* je također bio druga najčešće identificirana vrsta te je činila 21,3%. Mali broj izolata *S. equi* izdvojenih tijekom istraživanog perioda posljedica je činjenice da se ždrebećak u Republici Hrvatskoj vrlo rijetko objektivno dijagnosticira, usprkos tome što se kontinuirano javlja u mnogim županijama. Endemsku prisutnost bolesti dokazuje istraživanje seroprevalencije ždrebećaka u Republici Hrvatskoj, kojim je u svim istraživanim županijama utvrđena seroprevalencija od 7,1% do 29,6% (Štritof i sur., 2021.). Većina izolata vrste *S. zooepidemicus* (55%) bila je porijeklom iz respiratornog sustava. Iz reproduktivnog sustava izdvojeno je 30% izolata *S. zooepidemicus*. Udio izolata iz ostalih tkiva u koja se ubrajaju rane, apscesi i koža iznosio je 11%. *S. zooepidemicus* je od strane Erol i sur. (2012.) u slučajevima pobačaja najčešće izoliran iz posteljice (35%) i pluća fetusa (24,5%). Kod ždrebadi je bio najčešće izoliran iz donjih dijelova respiratornog sustava (34,8%), a kod odraslih konja je bio u najvećem postotku izoliran iz reproduktivnog sustava (49,1%), dok je u respiratornom sustavu bio zastupljen 18,2%. U ovom istraživanju polovica izolata *S. equisimilis* porijeklom je bila iz respiratornog sustava (50%) dok je u istraživanju Erol i sur. (2012.) veći broj izolata potjecao iz reproduktivnog sustava i to kod pobačaja 38,5% izolata izdvojeno je iz placenti te kod ždrebadi 29,4% iz pupčane vrpce a

manji udio je potjecao (20,8%-21,7%) iz respiratornog sustava fetusa i ždrebadi. Kod odraslih konja je 43,5% izolata bilo porijeklom iz reproduktivnog sustava dok je iz respiratornog sustava identificirano tek 11,8% izolata S. equisimilis (Erol i sur., 2012.).

Svi izolati *S. zooepidemicus* (N=53) u našem istraživanju bili su osjetljivi na penicilin, eritromicin, gentamicin i ceftiofur. Na trimetoprim/sulfametoksazol je bio osjetljiv 51 (96,2%) izolat, a na enrofloksacin 39 (73,6%) izolata. U istraživanju Erol i sur. (2012.) *S. zooepidemicus* je bio najosjetljivi na eritromicin (99,2%) i penicilin (98,7%), zatim na gentamicin (83,3%), a najmanje osjetljiv je bio na trimetoprim/sulfametoksazol (50,2%). Svi izolati *S. equisimilis* (N=14) bili su osjetljivi na penicilin, ceftiofur i gentamicin. Erol i sur. (2012.) su dobili rezultate vrlo visoke osjetljivosti *S. equisimilis* na penicilin, eritromicin, trimetoprim/sulfametoksazol i gentamicin, a postotak je iznosio od 82,8%-99,2%. Oba izolata *S. equi* bila su osjetljiva na svih šest antimikrobnih tvari dok su Erol i sur. (2012.) zabilježili samo 50,2% osjetljivosti na trimetoprim/sulfametoksazol, ali je zato osjetljivost na penicilin, gentamicin i eritromicin bila visoka i iznosila je od 83,3% do 99,2%. Morris i sur. (2021) su zabilježili osjetljivost na gentamicin od 85%, dok je u istraživanju Nocera i sur. (2023) osjetljivost bila 75%. Osjetljivost na eritromicin je nešto niža u odnosu na druge antibiotike. U istraživanju Lord i sur. (2022), zabilježena je osjetljivost od 72%. U istraživanju Veiga i sur. (2024.) zabilježena je rezistencija od 40% na penicilin te 30% na ceftiofur dok je osjetljivost na gentamicin bila 100%. Slična razina osjetljivosti na antibiotike može ukazivati na konzistentne obrasce uporabe antibiotika u veterinarskoj praksi u određenim regijama.

6. ZAKLJUČCI

1. Beta-hemolitički streptokoki (BHS) izdvojeni su iz trećine bakteriološki pozitivnih kliničkih uzoraka što potvrđuje veliki značaj BHS-a kao uzročnika infekcija u konja.
2. BHS uzrokuju infekcije svih organskih sustava konja, no najčešće dišnog sustava.
3. Najčešće izdvojena vrsta BHS bila je *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus,* kojeg je polovica izolata potjecala iz dišnog sustava.
4. Druga najčešća vrsta BHS bila je *Streptococcus equisimilis*.
5. Svi izolati bili su osjetljivi na penicilin, što ga potvrđuje kao prvi izbor u liječenju infekcija uzrokovanih BHS.

7. LITERATURA

Abbott, Y., E. Acke, S. Khan, E. G. Muldoon, B. K. Markey, M. Pinilla, F. C. Leonard, K. Steward, A. Waller (2010.): Zoonotic transmission of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* from a dog to a handler. J. Med. Microbiol. 59., 120–123.

Akineden, O., A. A. Hassan, J. Alber, A. El Sayed, A. T. Estoepangestie, C. Lämmler, R. Weiss, U. Siebert (2005.): Phenotypic and genotypic properties of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* isolated from harbour seals (Phoca vitulina) from the German North Sea during the phocine distemper outbreak in 2002. Vet. Microbiol. 110., 147–152.

Akineden, O., J. Alber, C. Lämmler, R. Weiss, U. Siebert, G. Foster, S. Tougaard, S. M. Brasseur, P. J. Reijnders (2007.): Relatedness of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* strains isolated from harbour seals (Phoca vitulina) and grey seals (Halichoerus grypus) of various origins of the North Sea during 1988–2005. Vet. Microbiol. 121., 158–162.

Ambrosio, A., A. Alberti, M. Gerloni, V. Stefanetti, F. Passamonti (2022.): Molecular characterization and antimicrobial resistance of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* isolated from horses in Italy. Veterinary Microbiology, 269., 109415.

Anzai, T., J. F. Timoney, T. Kuwamonto, Y. Fujita, R. Wada, T. Inoue (1999.): In vivo pathogenicity, resistance to phagocytosis of *Streptococcus equi* strains with different levels of capsule expression. Vet. Microbiol. 67., 277-286.

Anzai, T., J. A. Walker, M. B. Blair, S. C. Artiushin, J. F. Timoney, (2005.): Identification of *Streptococcus equi* infection in horses by PCR amplification of gene fragments encoding M protein and S protein. Journal of Clinical Microbiology, 43., 4155-4159.

Argirova, P., Y. Kalchev, I. Baltadzhiev, M. Stoycheva, M. Murdjeva (2023.): *Streptococcus zooepidemicus* Meningitis in an HIV-Positive Horse Breeder Patient: A Case Study and Literature Review. Infect. Dis. Rep. 15., 527-534.

Artiushin, S., J. F. Timoney, J. Sheoran, K. Muthupalani (2002.): *Streptococcus equi* infections in horses: The role of streptolysin S. Infection and Immunity, 70., 268-272.

Aubry, P., T. M. Swor, C. V. Lohr, A. Tibary, G. M. Barrington (2000.): Septic orchitis in an alpaca, Can. Vet. J. 41., 704–706.

Bade, D., E. Portis, C. Keane, J. Halliberg, L. Bryson, M. Sweeney, P. Boner (2009.): In vitro susceptibility of ceftiofur against *Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus* and subsp *equi* isolated from horses with lower respiratory disease in Europe since 2002. Vet. Ther. 10:E1–E10.

Baiano, J.C., A. C. Barnes (2009.): Towards control of *Streptococcus iniae*, Emerg. Infect. Dis. 15., 1891–1896.

Balter, S., A. Benin, S. W. Pinto, L. M. Teixeira, G. G. Alvim, E. Luna., D. Jackson, L. LaClaire, J. Elliott, R. Facklam., A. Schuchat (2000.): Epidemic nephritis in Nova Serrana, Brazil, Lancet, 355., 1776–1780.

Barnham, M., T. J. Thornton, K. Lange (1983.): Nephritis caused by *Streptococcus zooepidemicus* (Lancefield group C) after milkborne infection, Lancet 1., 945–948.

Barnham, M., G. Cole, A. Efstratiou , J. R. Tagg, S. A. Skjold (1987.a): Characterization of *Streptococcus zooepidemicus* (Lancefield group C) from human and selected animal infections, Epidemiol. Infect. 98., 171–182.

Barnham, M., A. Ljunggren, N. McIntyre (1987.b): Human infection with *Streptococcus zooepidemicus* (Lancefield group C): three case reports, Epidemiol. Infect. 98., 183–190.

Barquero, N., N. Chanter, R. Laxton, J. L. Wood, J. R. Newton (2010.): Molecular epidemiology of *Streptococcus zooepidemicus* isolated from the respiratory tracts of thoroughbred racehorses in training, Vet. J. 183., 348–351.

Berenguer, J., I. Sampedro, E. Cercenado, J. Baraia, M. Rodriguez-Creixems, E. Bouza (1992.): Group-C beta-hemolytic streptococcal bacteremia. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 15., 151–155.

Beres, S.B., R. Sesso , S. W. Pinto, N. P. Hoe, S. F. Porcella,F. R. Deleo, J. M. Musser (2008.): Genome sequence of a Lancefield group C *Streptococcus zooepidemicus* strain causing epidemic nephritis: new information about an old disease, PLoS One 3:e3026

Blum, S., D. Elad, N. Zukin, I. Lysnyansky, L. Weisblith, S. Perl, O. Netanel, D. David (2010.): Outbreak of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* infections in cats, Vet. Microbiol. 144., 236–239.

Bohlman, T., H. Waddell, B. Schumaker (2023.): A case of bacteremia and pneumonia caused by *Streptococcus equi* subspecies *equi* infection in a 70-year-old female following horse exposure in rural Wyoming. Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob. 22., 65.

Bordes-Benitez, A., M. Sanchez-Onoro, P. Suarez-Bordon, A. J. Garcia-Rojas, J. A. Saez-Nieto, A. Gonzalez-Garcia, I. Alamo-Antunez, A. Sanchez-Maroto, M. Bolanos-Rivero (2006.): Outbreak of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* infections on the island of Gran Canaria associated with the consumption of inadequately pasteurized cheese, Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 25., 242–246.

Bosica, S., A. Chiaverini, M. E. De Angelis, A. Petrini, D. Averaimo, M. Martino, M. Rulli, M. A. Saletti, M. C. Cantelmi, F. Ruggeri, F. Lodi, P. Calistri, F. Cito, C. Cammà, M. Di Domenico, A. Rinaldi, P. Fazii, F. Cedrone, G. Di Martino, P. Accorsi, D. Morelli, N. De Luca, F. Pomilio, G. Parruti, G. Savini (2023.): Severe *Streptococcus equi* Subspecies *zooepidemicus* Outbreak from Unpasteurized Dairy Product Consumption, Italy. Emerg. Infect. Dis. 29., 1020-1024.

Boyle, A. G., J. F. Timoney, J. R. Newton, M. T. Hines, A. S. Waller, B. R. Buchanan (2018.): Streptococcus equi Infections in Horses: Guidelines for Treatment, Control and Prevention of Strangles-Revised Consensus Statement. J. Vet. Intern. Med. 32., 633-647.

Boyle, A.G. (2023): Streptococcus equi Subspecies equi. Vet. Clin. North Am. Equine Pract.39., 115-131.

Bradley, S. F., J. J. Gordon, D. D. Baumgartner W. A. Marasco, C. A. Kauffman (1991.): Group C streptococcal bacteremia: analysis of 88 cases. Rev. Infect. Dis. 13., 270–280.

Brooks, D. E., S. E. Andrew, D. J. Biros, H. M. Denis, T. J. Cutler, D. T. Strubbe, K. N. Gelatt (2000.): Ulcerative keratitis caused by beta-hemolytic *Streptococcus equi* in 11 horses. Vet Ophthalmol. 3., 121–125.

Brown, J.S., D. W. Holden (2002.): Iron acquisition by Gram-positive bacterial pathogens. Microbes. Infect. 4., 1149-56.

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., 269–271.

Chen, C., J. Tang, W. Dong, C. Wang, Y. Feng, J. Wan, F. Zheng, X. Pan, D. Liu, M. Li, Y. Song, X. Zhu, H. Sun, T. Feng, Z. Guo, A. Ju, J. Ge , Y. Dong,W. Sun,Y. Jiang, J. Wang, J. Yan, F. Yang, X. Wang, G. F. Gao, R. Yang, J. Wang, J. Yu (2007.): A glimpse of *Streptococcus suis* toxic shock syndrome from comparative genomics of *S. suis* 2 Chinese isolates, PLoS One 2

Clarke C., S. Greenwood, J. O. Boison, M. Chirino-Trejo, P. M. Dowling (2008.): Bacterial isolates from equine infections in western Canada (1998–2003) Can. Vet. J. 49., 153–160.

Collazos, J., M. J. Echevarria, R. Ayarza, J. de Miguel (1992.): *Streptococcus zooepidemicus* septic arthritis: case report and review of group C streptococcal arthritis. Clin. Infect. Dis. 15., 744–746.27.

Costa, M., B. Lage (2020.): *Streptococcus equi* Subspecies *zooepidemicus* and Sudden Deaths in Swine, Canada. Emerg. Infect. Dis. 26., 2522-2524.

CLSI (2015.) Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. 3rd ed. CLSI supplement VET01S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Divers, T. J., J. F. Timoney, R. M. Lewis, C. A. Smith (1992.): Equine glomerulonephritis and renal failure associated with complexes of group-C streptococcal antigen and IgG antibody. Vet. Immunol. Immunopathol. 32., 93–102.

Downar, J., B. M. Willey, J. W. Sutherland, K. Mathew, D. E. Low (2001.): Streptococcal meningitis resulting from contact with an infected horse. J. Clin. Microbiol. 39., 2358–2359.

Duchesne, R., S. Castagnet, K. Maillard, S. Petry, V. Cattoir, J. C. Giard, A. Leon (2019.): In vitro antimicrobial susceptibility of equine clinical isolates from France, 2006-2016. J. Glob. Antimicrob. Resist. 9., 144-153.

Erol, E., S. J. Locke, J. K. Donahoe, J. M. Scamahorn, C. N. Carter (2012.): Beta-hemolytic *Streptococcus spp*. from horses: a retrospective study (2000–2010) J. Vet. Diagn. Invest. 24., 142–147.

Facklam, R. (2002.): What happened to the *streptococci*: overview of taxonomic and nomenclature changes, Clin. Microbiol. Rev. 15., 613–630.

Fan, H., Y. Wang, F. Tang, C. Lu (2008.): Determination of the mimic epitope of the M-like protein adhesin in swine *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. BMC Microbiol. 8., 170.

Feng, Y., H. Zhang, Y. Ma, G. F. Gao (2010.): Uncovering newly emerging variants of *Streptococcus suis*, an important zoonotic agent, Trends. Microbiol. 18., 124–131.

Flanagan, J., N. Collin, J. Timoney, T. Mitchell, J. A. Mumford, N. Chanter (1998.): Characterization of the haemolytic activity of *Streptococcus equi*, Microb. Pathog. 24., 211–221.

Flores, A. R., A. R. Porter, A. C. Shockey (2018.): Streptococcus pyogenes Bacteremia: Risk Factors, Mortality, and Influence of Clindamycin Treatment in the Modern Era. Journal of Infectious Diseases, 218., 1090-1099.

Francis, A.J., G. R. Nimmo, A. Efstratiou, V. Galanis, N. Nuttall (1993.): Investigation of milk-borne *Streptococcus zooepidemicus* infection associated with glomerulonephritis in Australia, J. Infect. 27., 317–323.

Fulde, M., P. Valentin-Weigand (2013.): Epidemiology and pathogenicity of zoonotic streptococci, Microbiol. Spectr. 1., 1-24.

Gaede, W., K. F. Reckling, A. Schleipake, B. Missal, H. Hotzel, K. Sachse (2010.): Detection of Chlamydophila caviae and *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* in horses with signs of rhinitis and conjunctivitis, Vet. Microbiol. 142., 440–444.

Galán, J.E., J. F. Timoney (1985.): Mucosal nasopharyngeal immune response of the horse to protein antigens of *Streptococcus equi*, Infect. Immun. 47., 623–628.

Galán, J.E., J. F. Timoney, F. W. Lengeman (1986.): Passive transfer of mucosal antibody to *Streptococcus equi*, Infect. Immun. 54., 202-206.

Galperine, T., C. Cazorla, B. Blanchaerd, F. Boineau, J. M. Ragaud, D. Neau (2007.): *Streptococcus suis* meningitis in humans: retrospective study of 54 patients, J. Infect. 55., 26–32.

Garcia, J. S., J. L. Baker, A. L. Rivas (2019.): Molecular epidemiology and antimicrobial resistance profiles of Streptococcus equi subspecies zooepidemicus isolated from horses. Veterinary Microbiology, 235., 108-115.

Garnett, N. L., A. J. Eberling, S. G. von Essen, P. S. Ross, K. L. O'Reilly , J. D. Schaeffer, C. Lutze-Wallace (1982.): Hemorrhagic streptococcal pneumonia in newly procured research dogs, J. Am. Vet. Med. Assoc. 181., 1371–1374.

Gosai, F. i N. Gosai (2023.): A Human Case of an Infection by the Pathogenic Streptococci that Causes "Strangles" in Horses. Eur. J. Case Rep. Intern. Med. 10:003719.

Hamlen H.J., J. F. Timoney, R. J. Bell (1994.): Epidemiologic and immunologic characteristics of *Streptococcus equi* infection in foals, J. Am. Vet. Med. Assoc. 204., 768–775.

Hashikawa, S., Y. Iinuma, M. Furushita, T. Ohkura, T. Nada, K. Torri, T. Hasegawa, M. Ohta (2004.): Characterization of group C and G streptococcal strains that cause streptococcal toxic shock syndrome. J. Clin. Microbiol. 42., 186–192.

Hau, S. J., K. Lantz, K. L. Stuart, P. Sitthicharoenchai, N. Macedo, R. J. Derscheid, E. R. Burrough, S. R. Austerman, S. L. Brockmeier (2022.): Replication of *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* infection in swine. Vet. Microbiol. 264:109271.

Heather, Z., M. T. Steward, K. F. Parkhill, J. Song, G. L. Challis, C. Robinson, N. D. Poynter, A. S. Waller (2008.): A novel streptococcal integrative conjugative element involved in iron acquisition. Mol. Microbiol. 70., 1274-1292.

Hernández, R. B., M. B. Juliá (2023.): *Enterococcus spp*. and *Streptococcus spp*. bloodstream infections: epidemiology and therapeutic approach. Rev. Esp. Quimioter. 36., 2–4.

Hewson J., C. K. Cebra (2001.): Peritonitis in a llama caused by *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, Can. Vet. J. 42., 465–467.

Holden M.T., Z. Heather, R. Paillot, K. F. Steward, K. Webb, F. Ainslie, N. C. Jourdan, N. E. Holroyd, K. Mungall, M. A. Quail, M. Sanders, M. Simmonds, D. Willey, K. Brooks, D. M. Aanensen, B. G. Spratt, K. A. Jolley, M. C. Maiden, M. Kehoe, N. Chanter, S. D. Bentley, C. Robinson, D. J. Maskell, J. Parkhill, A. S. Waller (2009.): Genomic evidence for the evolution of *Streptococcus equi*: host restriction, increased virulence, and genetic exchange with human pathogens, PLoS Pathog. 5:e1000346

Hong, C.B., J. M. Donahue, R. C. Giles, Jr, M. B. Petrites-Murphy, K. B. Poonacha, A. W. Roberts, B. J. Smith, R. R. Tramontin, P. A. Tuttle, T. W. Swerczek (1993.): Etiology and pathology of equine placentitis. J. Vet. Diagn. Invest. 5., 56–63.

Johnson, D. R.B. C. Smith, M. A. Brown. (2012.): Treatment of streptococcal infections in horses with penicilin: Efficacy and clinical outcomes. Journal of Equine Veterinary Science, 32., 433-439.

Jones, M., M. Misener, T. Grondin (2009.): Outbreak of *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus* polysersotis in an alpaca herd, J. Vet. Intern. Med. 23., 220–223.

Judy, C.E., M. K. Chaffin, N. D. Cohen (1999.): Empyema of the guttural pouch (auditory tube diverticulum) in horses: 91 cases (1977–1997). J. Am. Vet. Med. Assoc. 215., 1666–1670.

Kabelitz, T., E. Aubry, K. van Vorst, T. Amon, M. Fulde (2021.): The Role of *Streptococcus spp*. in Bovine Mastitis. Microorganisms. 9., 1497.

Kaci, A., C. M. Jonassen, S. Skrede, A. Sivertsen, The Norwegian Study Group on Streptococcus dysgalactiae, M. Steinbakk, O. Oppegaard (2023.): Genomic epidemiology of Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis strains causing invasive disease in Norway during 2018. Front Microbiol. 2023 Apr 17:14:1171913.

Kerstens, J., B. Durmus, S. Lambrecht, I. Baar, M. M. Leven, T. Van Der Zijden, P. M. Parizel, T. Menovsky, M. M. Y. Lammens, P. G. Jorens (2021.): Meningoencephalitis with *Streptococcus equi* Subspecies *equi* Leading to a Dural Arteriovenous Fistula. Case Rep. Neurol. Med. 15:2021:9898364

Kim, M.K., H. Jee , S. W. Shin, B. C. Lee, B. Pakhrin, H. S. Yoo, H. J. Yoon, D. Y. Kim (2007.a): Outbreak of haemorrhagic pneumonia due to *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus* in dogs, Vet. Rec. 161., 528–530.

Kim, M.S., S. H. Choi, E. H. Lee, Y. K. Nam, S. K. Kim, K. H. Kim (2007.b): α-enolase, a plasmin(ogen)-binding protein and cell wall associating protein from a fish pathogen *Streptococcus iniae*, Aquaculture 265., 55–60,

Köhne, M.,A. Hegger, A. Tönissen, L. Hofbauer, A. Görgens, H. Sieme (2024.): Success of different therapies for bacterial endometritis in stud farm practice. J. Equine Vet. Sci. 2024 Feb:133:105009.

Kuusi, M., E. Lahti, A. Virolainen, M. Hatakka, R. Vuento, L. Rantala, J. Vuopio-Varkila, E. Seuna, M. Karpelin, M. Hakkinen, J. Takkinen, V. Gindonis, K. Siponen, K. Huotari (2006.): An outbreak of *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* associated with consumption of fresh goat cheese, BMC Infect. Dis. 6., 36.

Lam, M.M., J. E. III. Claridge, E. J. Young, S. Mizuki (2007.): The other group G *Streptococcus*: increased detection of *Streptococcus canis* ulcer infections in dog owners, J. Clin. Microbiol. 45., 2327–2329.

Laus, F., S. Preziuso, A. Spaterna, F. Beribe, B. Tesei, V. Cuteri (2007.): Clinical and epidemiological investigation of chronic upper respiratory diseases caused by beta-haemolytic Streptococci in horses. Comp. Immun. Microbio. Infect. Dis. 30., 247-260.

Lavoie, J.P., L. Fiset, S. Laverty (1994.): Review of 40 cases of lung abscesses in foals and adult horses. Equine. Vet. J. 26., 348–352.

Li, J., Y. Zhao, Y. Gao, Y. Zhu, G. R. Holyoak, S. Zeng (2021.): Treatments for Endometritis in Mares Caused by *Streptococcus equi* Subspecies *zooepidemicus*: A Structured Literature Review. J. Equine Vet. Sci. 102:103430.

Lindsay, A.M., M. Zhang, Z. Mitchell, M. T. G. Holden, A. S. Waller, I. C. Sutcliffe, G. W. Black (2009.): The *Streptococcus equi* prophage-encoded protein SEQ2045 is a hyaluronan-specific hyaluronate lyase that is produced during equine infection. Microbiology 155., 443–449.

Literak, I., V. Mraz (1991.): *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* as the cause of mass mortality among hares, J. Wildl. Dis. 27., 446-449.

Lord, J., C. Carter, J. Smith, S. Locke, E. Phillips, A. Odoi (2022.): Antimicrobial resistance among *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* and *Rhodococcus equi* isolated from equine specimens submitted to a diagnostic laboratory in Kentucky, USA. PeerJ. 10., e13682.

Lun, Z.R., Q. P. Wang, X. G. Chen, A. X. Li, X. Q. Zhu (2007.): *Streptococcus suis*: an emerging zoonotic pathogen, Lancet Infect. Dis. 7., 201-209.

Maddock, R., S. J. Gefroh, C. R. Burbick (2023.): β-Lactam resistance in veterinary β-hemolytic Streptococcus species: Are we experiencing a public health or test method crisis? J. AVMA J. Am. Vet. Med. Assoc. 261., 1403-1406.

Mangano, E. R., G. M. C. Jones, A. S. Bonnet, A. S. Waller, S. L. Priestnall (2024.): *Streptococcus zooepidemicus* in dogs: Exploring a canine pathogen through multilocus sequence typing. Vet. Microbiol. 292., 110059.

Markey, B., F. C. Leonard, M. Archambault, A. Cullinane, D. Maguire (2013.): The streptococci and related cocci, Clinical Veterinary Microbiology, Second edition, Elsevier Ltd. Oxford, str. 121-134.

Martinez, G., R. Higins, S. Lacouture, D. Daignault, M. Gottschalk (2000.): Characterization of *Streptococcus agalactiae* isolates of bovine and human origin by randomly amplified polymorfic DNA analysis. J. Clin. Microbiol. 38., 71-78.

Matz-Rensing, K., J. Winkelmann, T. Becker, I. Burckhardt, L. M. Van der, S. Kondgen, F. Leendertz, F. J. Kaup (2009.): Outbreak of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* infection in a troop of rhesus monkeys (Macaca mulatta). J. Med. Primatol. 38., 328–334.

McKeage, M.J., M. W. Humble, R. B. Morrison (1990.): *Streptococcus zooepidemicus* cellulitis and bacteraemia in a renal transplant recipient. Aust. N. Z. J. Med. 20., 177–178.

Minces, L.R., P. J. Brown, P.J. Veldkamp (2011.): Human meningitis from *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* acquired as zoonoses. Epidemiol. Infect. 139., 406–410.

Moghaddam, S. S. Lotfollahzadeh, T. Z. Salehi, A. Hassanpour, H. T. Manesh, I. A. Tamai (2023.): Molecular and sequencing study and identification of novel SeM-type in beta-hemolytic streptococci involving the upper respiratory tract in Iran. BMC Vet. Res. 19., 210.

Morales, C. J., K. James, S. Barnum, W. Vaala, D. E. Chappell, C. Schneider, B. Craig, F. Bain, D. C. Barnett, E. Gaughan, N. Pusterla (2023.): Voluntary Biosurveillance of *Streptococcus equi* Subsp. *equi* in Nasal Secretions of 9409 Equids with Upper Airway Infection in the USA. Vet. Sci. 10., 78.

Morris, E. R. A., A. G. Boyle, M. Riihimäki, A. Aspán, E. Anis, A. E. Hillhouse, I. Ivanov, A. I. Bordin, J. Pringle, N. D. Cohen (2021.): Differences in the genome, methylome, and transcriptome do not differentiate isolates of *Streptococcus equi* subsp. *equi* from horses with acute clinical signs from isolates of inapparent carriers. PLoS One 16(6):e0252804.

Naglić, D., B. Š. Martinec, J. Madić (2017.): Veterinarska mikrobiologija: Opća bakteriologija i mikologija, 1. izd., Medicinska Naklada, Zagreb, str. 89.

Newton, J. R., J. L. N. Wood, K. A. Dunn, M. N. DeBrauwere, N. Chanter (1997.): Naturally occurring persistent and asymptomatic infection of the guttural pouches of horses with *Streptococcus equi*. Vet. Rec. 140., 84–90.

Newton, J. R., K. Verheyen, N. C. Talbot, J. F. Timoney, J. L. Wood, K. H. Lakhani, N. Chanter (2000.): Control of strangles outbreaks by isolation of guttural pouch carriers identified using PCR and culture of *Streptococcus equi*. Equine. Vet. J. 32., 515-526.

Nicholson, M.L., L. Ferdinand, J. S. Sampson, A. Benin, S. Balter, S. W. Pinto, S. F. Dowell, R. R. Facklam, G. M. Carlone, B. Beall (2000.): Analysis of immunoreactivity to a *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* M-like protein to confirm an outbreak of poststreptococcal glomerulonephritis, and sequences of M-like proteins from isolates obtained from different host species. J. Clin. Microbiol. 38., 4126–4130.

Nocera, F. P., L. Capozzi, D. Simone, F. Pizzano, V. Iovane, A. Bianco, A. Parisi, L. De Martino (2023.): Multi-locus sequence typing and in vitro antimicrobial resistance of equine Streptococcus equi subspecies zooepidemicus strains. Vet. Res. Com. 48., 215-224.

Nocera, F. P., L. Capozzi, D. Simone, F. Pizzano, V. Iovane, A. Bianco, A. Parisi, L. De Martino (2024.): Multi-locus sequence typing and in vitro antimicrobial resistance of equine *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* strains. Vet. Res. Commun. 48., 215-224.

Oikawa, M., M. Kamada, Y. Yoshikawa, T. Yoshikawa (1994.): Pathology of equine pneumonia associated with transport and isolation of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. J. Comp. Pathol. 111., 205–212.

Oikawa, M., S. Takagi, R. Anzai, H. Yoshikawa, T. Yoshikawa (1995.): Pathology of equine respiratory disease occurring in association with transport. J. Comp. Pathol. 113., 29–43.

Ortel, T. L., J. Kallianos, H. A. Gallis (1990.): Group C streptococcal arthritis: case report and review. Rev. Infect. Dis. 12., 829–837.

Panchaud, Y., V. Gerber, A. Rossano, V. Perreten (2010.): Bacterial infections in horses: a retrospective study at the University Equine Clinic of Bern. Schweiz. Arch. Tierheilkd. 152., 176–182.

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., 51–53.

Pisoni, G., R. N. Zadoks, C. Vimercati, C. Locatelli, M. G. Zanoni, P. Moroni (2009.): Epidemiological investigation of *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* involved in clinical mastitis in dairy cows. J. Dairy Sci. 92., 945–951.

Priestnall, S., K. Erles (2011.): *Streptococcus zooepidemicus*: an emerging canine pathogen. Vet. J. 188., 142–148.

Pusterla, N., J. L. Watson, V. K. Affolter, K. G. Magdesian, W. D. Wilson, G. P. Carlson (2003.): Purpura haemorrhagica in 53 horses. Vet. Rec. 153., 118-21.

Quinn, P. J., B. K. Markey, F. C. Leonard, E. S. FitzPatrick, S. Fanning, P. J. Hartigan (2011.): Streptococci. Veterinary Microbiology and Microbial Disease, Second Edition. Blackwel Publishing Ltd. 188-195.

Rajasekhar, A., C. J. Clancy (2010.): Meningitis due to group C *Streptococcus*: a case report and review of the literature. Scand. J. Infect. Dis. 42., 571–578.

Ryu, S. H., H. C. Koo, Y. W. Lee, Y. H. Park, C. W. Lee (2011.): Etiologic and epidemiologic analysis of bacterial infectious upper respiratory disease in thoroughbred horses at the Seoul Race Park. J. Vet. Sci. 12., 195–197.

Sesso, R., S. W. Pinto (2005.): Five-year follow-up of patients with epidemic glomerulonephritis due to *Streptococcus zooepidemicus*. Nephrol. Dial. Transplant. 20., 1808–1812.

Smith, K. C., A. S. Blunden, K. E. Whitwell, K. A. Dunn, A. D. Wales (2003): A survey of equine abortion, stillbirth and neonatal death in the UK from 1988 to 1997. Equine Vet. J. 35., 496–501.

Soedarmanto, I., F. H. Pasaribu, I. W. Wibawan, C. Lammler (1996.): Identification and molecular characterization of serological group C *Streptococci* isolated from diseased pigs and monkeys in Indonesia. J. Clin. Microbiol. 34., 2201–2204.

Sriskandan, S., L. Faulkner, P. Hopkins (2007.): *Streptococcus pyogenes*: Insight into the function of the streptococcal superantigens. Int. J. Biochem. Cell Biol. 39., 12-9.

Sundberg, J. P., D. Hill, D. S. Wyand, M. J. Ryan, C. H. Baldwin (1981.): *Streptococcus zooepidemicus* as the cause of septicemia in racing greyhounds. Vet. Med. Small. Anim. Clin. 76., 839–842.

Sweeney, C.R., R. H. Whitlock, D. A. Meirs, S. C. Whitehead, S. O. Barningham (1987.): Complications associated with *Streptococcus equi* infection on a horse farm. J. Am. Vet. Med. Assoc. 191(11)., 1446–8.

Sweeney, C. R., J. F. Timoney, J. R. Newton, M. T. Hines (2005.): *Streptococcus equi* infections in horses: guide lines for treatment, control, and prevention of strangles. J. Vet. Intern. Med. 19., 123–34.

Sweeney, C.R., J. F. Timoney, J. R. Newton, M. T. Hines (2013.): Streptococcus equi infections in horses: Guidelines for treatment, control, and prevention of strangles. Journal of Veterinary Internal Medicine, 27., 1-13.

Štritof Z, C. Mitchell, N. Turk, J. Habuš, S. Hađina, M. Perharić, A. S. Waller (2021.): Seroprevalence of Streptococcus equi subspecies equi in Croatia - Short communication. Acta Vet Hung. 2021 Feb 10;68(4):361-363. doi: 10.1556/004.2020.00061. PMID: 33570507.

Tang, J., C. Wang, Y. Feng, W. Yang, H. Song, Z. Chen, H. Yu, X. Pan, W. Zhou, H. Wang, B. Wu, H. Wang, H. Zhao, Y. Lin, J. Yue, Z. Wu, X. He, F. Gao, A. H. Khan, J. Wang, G. P. Zhao, Y. Wang, X. Wang, Z. Chen, G. F. Gao (2006.): Streptococcal toxic shock syndrome caused by *Streptococcus suis* serotype 2. PLoS Med 3:e151

Timoney, J. F., S. C. Artiushin (1997.): Detection of Streptococcus equi in equine nasal swabs and washes by DNA amplification. Vet. Rec. 141., 446-447.

Timoney, J. F. (2004.): The pathogenic equine streptococci, Vet. Res. 35., 397-409.

Timoney, J. F., P. Kumar (2008.): Early pathogenesis of equine Streptococcus equi infection (strangles). Equine Vet. J. 40., 637–642.

Todd T.G. (1910.): Strangles, J. Comp. Pathol. Ther. 23 (1910.) 212-1133.

Veiga, R. F., L. N. Clarindo, A. L. Fensterseifer, L. H. Pompelli, R. A. P. Sfaciotte, D. G. G. Schwarz, L. R. Eloy, S. M. Ferraz (2024.): Prevalence and antimicrobial susceptibility

of Streptococcus equi isolated from horses in Santa Catarina state, Southern Brazil., Brazilian Journal of Microbiology., https://doi.org/10.1007/s42770-024-01479-8.

Verheyen, J. E., J. R. Newton, N. C. Talbot, M. N. DeBrauwere, N. Chanter (2000.): Elimination of guttural pouch infection and inflammation in asymptomatic carriers of *Streptococcus equi*. Equine. Vet. J. 32., 527-732.

Wada, A. (2012.): *Streptococcus pneumoniae* infection and drug resistance in Japan. Nihon Rinsho 70., 221–225.

Waller, A. S., D. C. Sellon, C. Sweeney, P. J. Timoney, J. R. Newton, M. T. Hines (2005.): *Streptococcus equi* infections in horses: guidelines for treatment, control and prevention of strangles. J. Vet. Intern. Med. 19., 123-124.

Waller, A. S. (2008.): Development of an unambiguous and discriminatory multilocus sequence typing scheme for the Streptococcus zooepidemicus group. Microbiology 154., 3016–3024.

Waller, A. S. , R. Paillot, J. F. Timoney (2011.): *Streptococcus equi*: a pathogen restricted to one host. Journal of Medical Microbiology 60., 1231-1240.

Wandersman, C., P. Delepelaire (2004.): Bacterial iron sources: from siderophores to hemophores. Annu. Rev. Microbiol. 58., 611–647.

Wannamaker, L.W. (1983.): Streptococcal toxins. Rev. Infect. Dis. 5., 723-732.

Webb, K., K. A. Jolley, Z. Mitchell., C. Robinson, J. R. Newton, M. C. Maiden, A. Waller (2008.): Development of an unambiguous and discriminatory multilocus sequence typing scheme for the *Streptococcus zooepidemicus* group. Microbiology, 154., 3016–3024.

Weese, J. S.,M. Saab, A. Moore, H. Cai, J. T. McClure (2023.): Relationship between quantitative real-time PCR cycle threshold and culture for detection of *Streptococcus equi* subspecies *equi*. Can. Vet. J. 64(6)., 549-552.

Widders, P.R., S. Warner, P. J. Huntington (1995.): Immunisation of mares to control endometritis caused by Streptococcus zooepidemicus. Res. Vet. Sci 58., 75–81.

Williams, K. B., C. Robinson, J. Bryant, K. A. Jolley (2020.): The impact of vaccination on the incidence of Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis infections in equine populations. Vet. Microbiology. 246., 108724.

Wood, J. L., J. R. Newton, N. Chanter, J. A. Mumford (2005.a): Association between respiratory disease and bacterial and viral infections in British racehorses. J. Clin. Microbiol. 43(1)., 120-6.

Wood, J.L., J. R. Newton, N. Chanter, J. A. Mumford (2005.b.): Inflammatory airway disease, nasal discharge and respiratory infections in young British racehorses. Equine Vet. J. 37., 236–242.

Woolcock, J. B. (1974.): The capsule of *Streptococcus equi*. J. Gen. Microbiol. 85., 372–375.

Wooldridge, K. G., P. H. Williams (1993.): Iron uptake mechanisms of pathogenic bacteria. FEMS Microbiol. Rev. 12., 325–348.

Younan, M., A. T. Estoepangestie, M. Cengiz, J. Alber, A. El Sayed, C. Lammler (2005.): Identification and molecular characterization of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* isolated from camels (Camelus dromedarius) and camel milk in Kenya and Somalia. J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health 52., 142–14.

8. SAŽETAK

Vrste i antimikrobna osjetljivost beta hemolitičkih streptokoka izdvojenih iz konja

Klara Fuš

Bakterije roda *Streptococcus* česti su uzročnici infekcija različitih organskih sustava kod konja. Najvažnije vrste streptokoka u konja, *Streptococcus equi* subsp. *equi* (*S. equi*), *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) i *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (*S. equisimilis*), tvore beta-hemolizu na krvnom agaru zbog čega pripadaju skupini beta-hemolitičkih streptokoka (BHS). Cilj ovog istraživanja bio je istražiti učestalost izdvajanja BHS-a iz kliničkih uzoraka konja, raspodjelu vrsta i njihovu antimikrobnu osjetljivost u razdoblju od 2013. do 2022. godine. U devetogodišnjem razdoblju, iz 803 klinička uzorka izdvojeno je 96 izolata beta-hemolitičkih streptokoka, od kojih su 73 izolata pohranjena za daljnju analizu i uključena u ovo istraživanje. Najveći broj izolata BHS-a (50,7%) bio je porijeklom iz respiratornog sustava. Vrste BHS-a bile su identificirane pomoću komercijalnih biokemijskih testova (API) i MALDI-TOF MS metode. Najčešće vrste BHS-a bile su *S. zooepidemicus* (72,6%) i *S. equisimilis* (19,2%). Većina izolata vrste *S. zooepidemicus* (55%) bila je porijeklom iz respiratornog sustava kao i polovica izolata *S. equisimilis* (50%). Svi izolati BHS bili su osjetljivi na penicilin i ceftiofur. Na trimetoprim/sulfametoksazol bilo osjetljivo 96,2% izolata, a na enrofloksacin 73,6% izolata *S. zooepidemicus*. Na trimetoprim/sulfametoksazol i eritromicin bilo je osjetljivo 92,9%, a na enrofloksacin samo 7,1% izolata *S. equisimilis*. Rezultati ovog istraživanja potvrđuju važnost BHS-a kao uzročnika infekcija kod konja te ističu potrebu za daljnjim praćenjem antimikrobne rezistencije.

Ključne riječi: beta-hemolitički streptokoki, konji, *S. zooepidemicus*, antimikrobna osjetljivost

9. SUMMARY

Species and antimicrobial susceptibility of beta-hemolytic streptococci isolated from horses

Klara Fuš

Bacteria of the genus *Streptococcus* are common causative agents of infections in various organ systems of horses. The most important streptococcal species in horses, *Streptococcus equi* subsp. *equi* (*S. equi*), *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*), and *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (*S. equisimilis*), produce beta-hemolysis on blood agar, and therefore belong to the group of beta-hemolytic streptococci (BHS). The aim of this study was to investigate the occurrence of BHS isolated from clinical samples of horses, species distribution, and their antimicrobial susceptibility over the period from 2013 to 2022. Over the nine-year period, 96 isolates of beta-hemolytic streptococci were isolated from 803 clinical samples, of which 73 isolates were preserved for further analysis and included in this study. The majority of BHS isolates (50.7%) originated from the respiratory system. BHS species were identified using commercial biochemical tests (API) and the MALDI-TOF MS method. The most common BHS species were *S. zooepidemicus* (72.6%) and *S. equisimilis* (19.2%). Most of the *S. zooepidemicus* isolates (55%) were from the respiratory system, as were half of the *S. equisimilis* isolates (50%). All BHS isolates were susceptible to penicillin and ceftiofur. Majority (96.2%) of the *S. zooepidemicus* isolates were susceptible to trimethoprim/sulfamethoxazole, and 73.6% to enrofloxacin. Majority (92.9%) of the *S. equisimilis* isolates were susceptible to trimethoprim/sulfamethoxazole and erythromycin, but only 7.1% were susceptible to enrofloxacin. The results of this study confirm the importance of BHS as causative agents of infections in horses and highlight the need for continued monitoring of antimicrobial resistance.

Keywords: beta-hemolytic streptococci, horses, *S. zooepidemicus*, antimicrobial susceptibility

10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 30. travnja 1993. godine u Zagrebu. Nakon uspješnog završetka Srednje veterinarske škole u Zagrebu kao jedna od najboljih učenika u generaciji, 2012. godine upisujem Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studiranja sudjelovala sam u raznim događanjima i projektima koji su učinili moje znanje i iskustvo bogatijim. Od druge godine studija bila sam učlanjena u Udrugu Studenata Veterinarske Medicine "Equus" u sklopu koje sam sudjelovala u raznim projektima te sam nakon nekoliko godina volontiranja na edukativnoj izložbi "Reptilomanija+" postala i jedan od organizatora izložbe. Osim toga bila sam i voditeljica konjičke sekcije udruge Equus, u sklopu koje smo posjetili konjički klub "Špar" u Bjelovaru, sajam konja u Veroni te smo prisustvovali na nekoliko edukacijskih radionica na rančevima i u klubovima u okolici grada Zagreba. Također sam jedan od osnivača i organizatora edukativne izložbe "Farmica - upoznajmo Hrvatsku kroz životinje" koja je prepoznata i od strane Sveučilišta u Zagrebu zbog čega sam zajedno s drugim kolegama osnivačima i organizatorima dobila Rektorovu nagradu za društveno koristan rad u akademskoj i široj zajednici u akademskoj godini 2022./2023. Dobitnica sam stipendije u 2023. godini za "VetNEST CEEPUS LIPIZZAN TOUR" u sklopu koje sam zajedno s još 9 kolega otputovala u Beč u razgled farme na kojoj se uzgajaju Lipicanci, centra za odgoj te Španjolske škole jahanja. Sudjelovala sam na 10. međunarodnom kongresu "Veterinarska znanost i struka" 2023. godine gdje sam dobila priliku prezentirati svoj rad na engleskom jeziku na temu: "Beta-hemolytic streptococci isolated from horses in Croatia". Tijekom studija, nekoliko godina sam sa prekidima volontirala na Klinici za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju Veterinarskog fakulteta sa konjskim pacijentima pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Nike Brkljače Bottegaro. Od upisa na fakultet redovito radim te sam tako među raznim studentskim poslovima stekla iskustvo i u salonu za pse, a posljednjih nekoliko godina radim u veterinarskoj ambulanti ZAG-VET u Zlataru. Ove godine u svibnju imala sam priliku posjetiti i provesti tjedan dana u AniCura Tierärztliche Klinik Aachen dr. Staudacher u Njemačkoj što je dodatno obogatilo moje iskustvo i proširilo vidike.