

# Mikoplazme pasa

---

**Galović, Mihael**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2018**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:443787>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2021-01-19**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET

Mihael Galović

**MIKOPLAZME PASA**

Diplomski rad

Zagreb, 2018.

**Zavod za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom  
Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu**

**Predstojnik:** prof. dr. sc. Zoran Milas

**Mentor:** doc. dr. sc. Selma Pintarić, dr. med. vet.

**Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:**

1. Doc.dr.sc. Josipa Habuš
2. Doc. dr.sc. Suzana Hađina
3. Doc. dr. sc. Selma Pintarić
4. dr. sc. Vesna Mojčec Perko, dipl. ing. mol. biol. (zamjena)

## Zahvala

Najviše zahvaljujem i ujedno posvećujem ovaj diplomski rad svojim dragim roditeljima, ocu Ivanu i majci Ireni koji su me uvijek podržavali u svemu u životu, ohrabrivali me i omogućili mi studiranje te rezultate svakog mojeg ispita s nestrpljenjem iščekivali.

Zahvaljujem svojim mentorima, doktorici Nini, Nenadu, Vlasi i Goranu te ostalim kolegama, od njih sam učio i dobivao ogromnu podršku. Zahvaljujem svim dragim prijateljima, a posebno mojem prijatelju Igoru na konstantnoj podršci kroz ovih 6 godina, ohrabriranju prije ispita, pozitivni i svakoj pomoći, to je stvarno trebalo izdržati.

Zahvaljujem svojoj divnoj mladoj mentorici doc. dr. sc. Selmi Pintarić koja me je svojim zalaganjem i savjetima oduševila, pomogla mi je u svim segmentima izrade ovoga rada uz sve ostale obaveze, veliko hvala!

Zahvaljujem dragoj prof. dr. sc. Branki Šeol Martinec na svakoj pomoći i savjetima tijekom studija.

Hvala svim bliskim i dragim ljudima koji su bili uz mene sve ove godine.

## Popis priloga

1. Tablica 1. Promjene klasifikacije i nazivlja bivših pripadnika rodova *Haemobartonella* i *Eperythrozoon* (prema HABRUN, 2014.)
2. Slika 1. *Mycoplasma haemocanis* u krvnom razmazu psa (BREITSCHWERDT, 2015.).
3. Slika 2. Presjek kolonije koji prikazuje rast mikoplazme na površini i ispod površine hranjive podloge (MARKEY i sur., 2013.)
4. Slika 3. Kolonije vrste *Mycoplasma bovis* (iz zbirke Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu)
5. Slika 4. Izolacija vrste *M. cynos* iz uzoraka laboratorijskih pasa pasmine „beagle“ (HONG i sur., 2012.)
6. Slika 5. Žuto obojena gingivalna sluznica u psa uslijed hemolitičke anemije (ARCHER i sur., 2013.)
7. Slika 6. Žuto obojena episklera u psa uslijed hemolitičke anemije (ARCHER i sur., 2013.)
8. Slika 7. Nakupina purulentnog eksudata na bazi lubanje (strjelica) nakon uklanjanja mozga i moždanih ovojnica, vidljiva je difuzna kongestija u području periosteuma (ILHA i sur., 2010.)
9. Tablica 2. Preporučena antimikrobna terapija mikoplazmalnih infekcija u pasa (SYKES, 2014.)
10. Slika 8. Rana na prstu nakon operativnog uklanjanja falange u čovjeka (A), kolonije vrste *M. canis* na Columbia agaru s dodatkom ovčje krvi nakon 48-satne mikroaerofilne inkubacije (B) (KLEIN i sur., 2018.)

## POPIS KRATICA

$\mu\text{m}$  – mikrometar

rRNA – ribosomska ribonukleinska kiselina

ALP – alkalna fosfataza

CIRD – (canine infectious respiratory disease), zarazni kašalj pasa

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

ELISA – (enzyme linked immunosorbent assay), imunoenzimni test

HE – hemalaun-eozin bojenje

i/v – intravenski

mg/kg – miligrama po kilogramu (tjelesne težine)

mm – milimetar

p/o – per os, na usta

PCR – (polymerase chain reaction), lančana reakcija polimeraze

SŽS – središnji živčani sustav

## SADRŽAJ

1.0.	UVOD .....	1
2.0.	PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA .....	4
2.1.	Mikoplazme izdvojene iz pasa .....	4
2.2.	Izdvajanje, uzgoj i identifikacija mikoplazama.....	7
2.3.	Infekcije i bolesti u pasa uzrokovane mikoplazmama.....	10
2.3.1.	Infekcije i bolesti respiratornog sustava .....	10
2.3.2.	Infekcije i bolesti mokraćno-spolnog sustava.....	12
2.3.3.	Infekcije i bolesti krvožilnog sustava .....	13
2.3.4.	Infekcije i bolesti živčanog sustava .....	15
2.3.5.	Ostale infekcije i bolesti uzrokovane mikoplazmama .....	16
2.4.	Dijagnostika mikoplazmoza u pasa .....	17
2.5.	Načela terapije infekcija i bolesti uzrokovanih mikoplazmama u pasa .....	19
2.6.	Mikoplazme kao uzročnik bolesti ljudi .....	21
3.0.	RASPRAVA.....	22
4.0.	ZAKLJUČCI .....	25
5.0.	LITERATURA.....	26
6.0.	SAŽETAK.....	29
7.0.	SUMMARY .....	30
8.0.	ŽIVOTOPIS .....	31

## 1.0. UVOD

Mikoplazme su najmanji i najjednostavniji prokarioti koji se mogu samostalno razmnožavati (MARKEY i sur., 2013.). Naziv „mikoplazme“ se prvenstveno odnosi na vrste roda *Mycoplasma* koje za rast iziskuju kolesterol, ali kao trivijalni naziv koristi se za sve ostale vrste iz razreda *Mollicutes* (NAGLIĆ i sur., 2005.). Od svih rodova uvrštenih u razred *Mollicutes*, pet ih je važno u veterinarskoj medicini (HABRUN, 2014.) Većina vrsta koje su patogene za domaće i divlje sisavce i ptice pripada porodici *Mycoplasmataceae*, rodovima *Mycoplasma* i *Ureaplasma*, dok su u medicinskom smislu manje važne vrste iz porodice *Acholeplasmataceae*, roda *Acholeplasma* (NAGLIĆ i sur., 2005.). Vrste koje pripadaju rodovima *Haemobartonella* i *Eperythrozoon* bile su klasificirane kao rikecije, a odnedavno su uvrštene u porodicu *Mycoplasmataceae* (MARKEY i sur., 2013.). Budući da se novoklasificirani rodovi poprilično razlikuju od dosadašnjih mikoplazmi, opisuju se uglavnom zasebno (NAGLIĆ i sur., 2005.). Specifičnost ovih mikoplazama je da „parazitiraju“ u crvenim krvnim stanicama pa su poznate kao hematotropne mikoplazme, a ponekad ih se trivijalno naziva imenom „hemoplazme“ (MARKEY i sur., 2013.).

Mikoplazme su bakterije izdvojene iz svih vrsta domaćih životinja, mnogih vrsta divljih životinja, ptica, ljudi, insekata, biljaka i gmazova (CHALKER, 2005.). Pojedini pripadnici roda *Mycoplasma* mogu inficirati više različitih vrsta domaćina (SYKES, 2014.). Raširene su po cijelom svijetu i većinom obitavaju u organizmu primljivih domaćina kao komenzali na sluznicama prvenstveno gornjeg dišnog sustava te probavnog i genitalnog trakta, na površinama zglobova i u mliječnoj žlijezdi goveda. Pojedine patogene vrste imaju afinitet za mezenhimalne stanice u zglobovima i seroznim šupljinama. Infekcije uzrokovane mikoplazmama su uglavnom kronične i slabog intenziteta, a najčešće zahvaćaju respiratorni trakt i pluća (MARKEY i sur., 2013.). Pojedine vrste u pogodovnim uvjetima mogu uzrokovati niz različitih infekcija, anemiju, artritis, neplodnost i bolesti respiratornog sustava (CHALKER, 2005.). Prijenos bakterija uglavnom je putem aerosola, veneralno ili vertikalno, a važan je i prijenos ptičjih mikoplazama putem jaja. Hematotropne mikoplazme prenose se sa životinje na životinju putem artropoda (MARKEY i sur., 2013.). Prema vrsti nositelja koje inficiraju mikoplazme se obično dijele na mikoplazme preživača, svinja, ovaca i koza, peradi, konja, pasa, mačaka i glodavaca (HABRUN, 2014.).

Izvan organizma domaćina, u okolišu, mikoplazme mogu preživjeti nekoliko dana ukoliko su zaštićene od sunčeve svjetlosti (MARKEY i sur., 2013.).



Mikoplazme nemaju mogućnost stvaranja čvrste stanične stijenke i okružene su staničnom membranom sastavljenom od proteina, glikoproteina, glikolipida i fosfolipida. Zbog odsutnosti čvrste stanične stijenke, mikoplazme su otporne na antimikrobne lijekove koji inhibiraju sintezu stanične stijenke (prvenstveno na peniciline i cefalosporine). Osim toga, zbog nedostatka stanične stijenke mikoplazme su promjenjiva oblika, pleomorfne. Stanice mogu biti kuglastog, nitastog, zavojitog ili prstenastog oblika (MARKEY i sur., 2013.). Fleksibilnost oblika omogućava mikoplazmama prolazak kroz bakteriološke filtre promjera pora od 0,22  $\mu\text{m}$  do 0,45  $\mu\text{m}$  zbog čega su česti kontaminanti staničnih kultura za uzgoj virusa (HABRUN, 2014.). Poput drugih bakterija dijele se binarnom diobom, ali ponekad na osebujan način kada od jedne stanice nastanu višejezgrene nitaste tvorevine nalik hifama. Naknadnom segmentacijom citoplazme nastanu nizovi kugličastih tvorevina koje se oslobađaju kao nove prokariotske stanice mikoplazama (NAGLIĆ i sur., 2005.).

Mikoplazme imaju relativno mali genom (oko 800 gena) te im, osim gena za sintezu stanične stijenke, nedostaje i velik broj gena koji kodiraju pojedine metaboličke procese. Stoga im je znatno smanjena mogućnost biosinteze velikog broja esencijalnih hranjivih tvari što ih čini jednim od mikroorganizama koje je najteže uzgojiti u laboratoriju (HABRUN, 2014.). Mikoplazme većinom zahtijevaju specifične faktore rasta, kao što je kolesterol za mikoplazme iz roda *Mycoplasma* ili ureja za mikoplazme iz roda *Ureaplasma*. Većinom su fakultativni anaerobi i najbolje rastu u atmosferi s povećanom količinom  $\text{CO}_2$ . Na hranjivoj podlozi tvore karakteristične kolonije oblika pečenog jajeta „na oko“ (MARKEY i sur., 2013.).

Utvrđeno je da vrsta *Mycoplasma neurolyticum* proizvodi neurotoksični egzotoksin, a smatra se da ga proizvode i pojedini sojevi vrsta *Mycoplasma gallisepticum* i *Mycoplasma pneumoniae* (NAGLIĆ i sur., 2005.). S druge strane se razmatra da je toksičan učinak mikoplazama na stanice nositelja zapravo rezultat djelovanja njihovih metaboličkih produkata kao što su vodikov peroksid i drugi reaktivni kisikovi spojevi (MARKEY i sur., 2013.). Proizvodnjom tvari koje imaju odlike endotoksina, pojedine mikoplazme potiču makrofage na lučenje citokina interleukina 1, interleukina 6 i faktora tumorske nekroze, čime započinje upala (NAGLIĆ i sur., 2005.). Metaboličke aktivnosti vezane uz prijanjanje za stanice nositelja i izbjegavanje njegova imunskog odgovora, važne su u razvoju bolesti (MARKEY i sur., 2013.). Primjerice goveđe ureaplazme tvorbom jedne proteaze mogu inaktivirati protutijela IgA1 i time smanjiti obrambenu sposobnost sluznice. Mnoge vrste mikoplazama tvore hemolizine (NAGLIĆ i sur., 2005.). Mogućnost promjene površinskih proteina važan je čimbenik virulencije mikoplazmi jer se time brzo privikavaju na nositelja i izbjegavaju

učinkovit imunski odgovor (HABRUN, 2014.). Mikoplazme koje uzrokuju pneumonije vežu se na trepetljikavi epitel dišnih puteva i uzrokuju intaktivaciju mukocilijarnog pokrova te posljedični gubitak cilija (HABRUN, 2014.).

Svrha ovog diplomskog rada je objediniti podatke dosadašnjih istraživanja o mikoplazmama kao uzročnicima infekcija u pasa. Posebno će biti naglašeno značenje nalaza mikoplazama u pasa s različitim kliničkim očitovanjima.

## 2.0. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

### 2.1. Mikoplazme izdvojene iz pasa

Prva pojava mikoplazama u pasa zabilježena je 1934. godine (SHOETENSACK, 1934.). Od tada je iz pasa izdvojeno 15 vrsta mikoplazama: *Acholeplasma laidlawii*, *Mycoplasma arginini*, *Mycoplasma bovis genitalium*, *Mycoplasma cynos*, *Mycoplasma canis*, *Mycoplasma felis*, *Mycoplasma feliminutum*, *Mycoplasma haemocanis*, *Mycoplasma gateae*, *Mycoplasma edwardii*, *Mycoplasma molare*, *Mycoplasma maculosum*, *Mycoplasma opalescens*, *Mycoplasma spumans* i *Ureaplasma canigenitalium*. Osim toga, izdvojene su i dvije vrste koje ne pripadaju niti jednoj dosad poznatoj mikoplazmi, ali nisu još u potpunosti opisane: *Mycoplasma* sp. HRC689 i VJC358 (CHALKER, 2005.). S obzirom da je velik broj navedenih mikoplazama izdvojen iz različitih domaćina, termin 'mikoplazme pasa' je relativan. Spektar mikoplazama koje uzrokuju ili mogu uzrokovati infekcije u pasa i mačaka nije u potpunosti razjašnjen zbog težine identifikacije pojedinih vrsta. Smatra se da će se pojedine vrste mikoplazama pasa i mačaka tek otkriti upotrebom molekularnih metoda u budućnosti (SYKES, 2014.). Zbog poteškoća prilikom identifikacije vrsta mikoplazama u pasa većina istraživanja provodila je samo dokazivanje prisutnosti ili odsutnosti mikoplazama u različitim kliničkim uzorcima i vrlo se malo zna o specifičnim infekcijama u pasa uzrokovanih mikoplazmama (CHALKER, 2005.). Najčešće su povezane s keratokonjunktivitisom i/ili respiratornom bolesti gornjeg dišnog sustava u mačaka, bolestima reproduktivnog sustava i urinarnog trakta u pasa, bolestima donjeg dišnog sustava i infekcijama mekih tkiva, meningoencefalitisom u pasa i mačaka. Mikoplazme se pojavljuju kao sekundarni uzročnici na već prisutnu bakterijsku ili virusnu infekciju, ili u naizgled zdravih nositelja koji u pozadini boluju od neoplastične bolesti ili su na terapiji imunosupresivnim lijekovima (SYKES, 2014.).

Područje bakteriologije koje proučava mikoplazme pasa je malo, obuhvaća manje od 50 publikacija u posljednjih 40 godina. Značaj svih mikoplazama izdvojenih iz pasa ostaje do danas nerazjašnjen, ali poznato je da su pojedine vrste povezane sa anemijom u pasa (*M. haemocanis*), respiratornim bolestima (*M. cynos*) i infekcijom urinarnog trakta (*M. canis*) (CHALKER, 2005.).

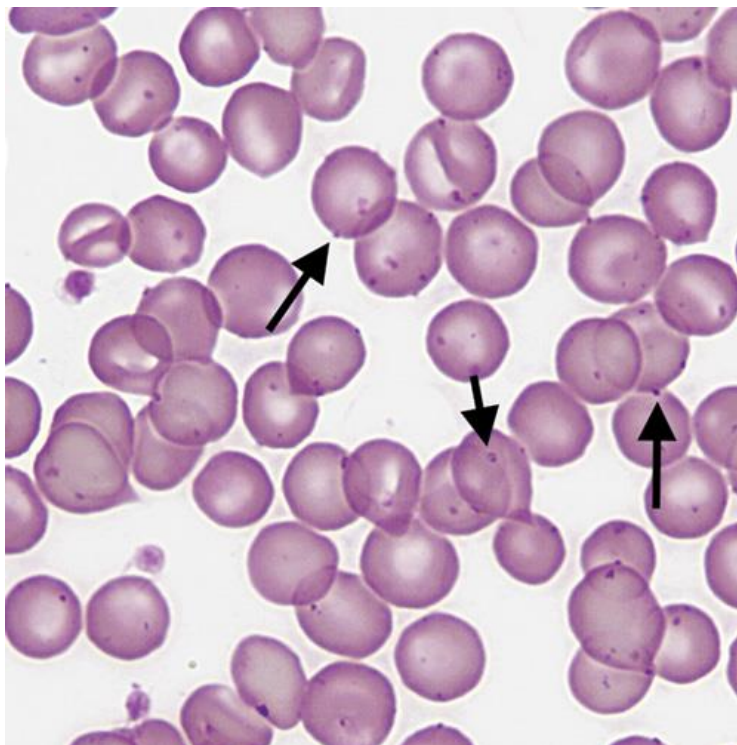
Pripadnici rodova *Haemobartonella* i *Eperythrozoon* zbog nedostatka čvrste stanične stijenke nalikuju ostalim mikoplazmama, a prijanjaju uz eritrocite nekih vrsta kralježnjaka gdje se umnažaju (Tablica 1.). Prenose se s jedne na drugu životinju hematofagnim artropodima (krpelji, uši, komarci i buhe) (HABRUN, 2014.).

Tablica 1. Promjene klasifikacije i nazivlja bivših pripadnika rodova *Haemobartonella* i *Eperythrozoon* (prema HABRUN, 2014.)

SADAŠNJI NAZIV	STARI NAZIV	NOSITELJ
<i>Mycoplasma haemofelis</i>	<i>Haemobartonella felis</i>	mačka
<i>Mycoplasma haemocanis</i>	<i>Haemobartonella canis</i>	pas
<i>Mycoplasma haemomuris</i>	<i>Haemobartonella muris</i>	glodavci
<i>Mycoplasma ovis</i>	<i>Eperythrozoon ovis</i>	ovca i koza

Hematotropne mikoplazme slabo se boje prema Gramu. Zato se razmaz krvi u svrhu identifikacije i postavljanja dijagnoze boji prema Giemsi ili postupcima prema Macchiaveliju, Gimenezu ili Leishmanu. Hematotropne mikoplazme ne rastu na bakteriološkim hranjivim podlogama, već se poput virusa mogu uzgojiti na žumančanoj vrećici kokošjeg embrija ili staničnoj kulturi laboratorijskih životinja (HABRUN, 2014.). Na slici 1. nalazi se *M. haemocanis*.

Slika 1. *M. haemocanis* u krvnom razmazu psa (BREITSCHWERDT, 2015.).



## 2.2. Izdvajanje, uzgoj i identifikacija mikoplazama

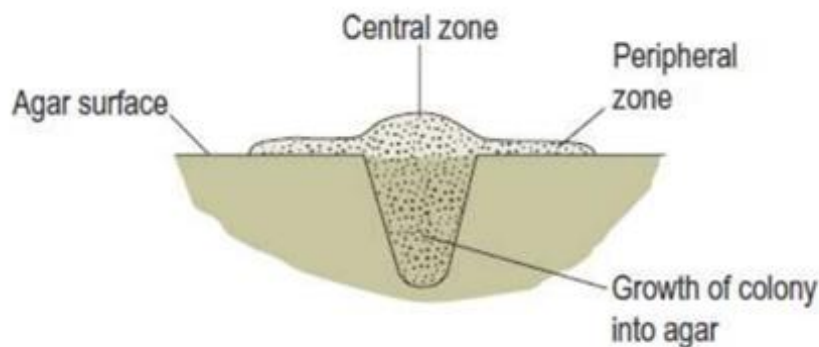
Mikoplazme su izuzetno osjetljive na vanjske utjecaje pa uzorke namijenjene njihovom izdvajanju treba što prije ohladiti na temperaturu hladnjaka i dostaviti u laboratorij unutar 24-48 sati. Uzorci se uzimaju od životinja u početnom stadiju bolesti zbog čestih sekundarnih infekcija drugim mikrobima koji otežavaju izdvajanje mikoplazama (HABRUN, 2014.). Uzorci mogu biti strugotine ili obrisci sluznice, eksudat iz traheje, aspirati, plućno tkivo na granici lezije i zdravog tkiva, sinovijalna tekućina i mlijeko (MARKEY i sur., 2013.).

Mikoplazme za svoj rast zahtijevaju više specifičnih hranjivih tvari i znatno su osjetljivije na uvjete uzgoja od drugih bakterija. Hranjiva podloga mora biti izotonična, a u svrhu sprječavanja rasta bakterija kojima je materijal za pretragu na mikoplazme redovito onečišćen, podlogama se dodaje talijev acetat kao inhibitor rasta gram-negativnih bakterija i penicilin (ili ampicilin) kao inhibitor rasta gram-pozitivnih bakterija. Osnovna podloga za uzgoj mikoplazama sadrži iscrpak goveđeg srca, pepton, krvni serum (20%), iscrpak pekarskog kvasca, DNA, NAD (nikotinamid adenin dinukleotid) (NAGLIĆ i sur., 2005.). Vrste rodova *Mycoplasma* i *Ureaplasma* zahtijevaju u podlozi kolesterol, a ureaplazme i dodatak ureje (MARKEY i sur., 2013.). Akoleplazme rastu na podlogama koje služe za izdvajanje bakterija iz roda *Mycoplasma*, ali mogu rasti i bez dodatka krvnog seruma (HABRUN, 2014.). Uzgoj mikoplazama na umjetnoj hranjivoj podlozi za sada ostaje najčešće korištena metoda detekcije prisutnosti mikoplazama u uzorcima dobivenim od pasa (CHALKER, 2005.).

Kod rutinskog izdvajanja mikoplazmi uzorak valja nacijepiti na dva bujona i dva agara (jedan agar i bujon prikladan za izdvajanje mikoplazmi, a drugi za izdvajanje ureaplazmi) (HABRUN, 2014.). Većina mikoplazama pasa raste brzo (1-2 dana od primarne izolacije) na komercijalno dostupnim čvrstim umjetnim podlogama za izdvajanje mikoplazama, u aerobnim uvjetima pri temperaturi od 37°C. Neke mogu rasti anaerobno, a neke čak i na običnom krvnom agaru (CHALKER, 2005.). Podloge se pregledavaju nakon 48 i 96 sati inkubacije tako što se osvijetle s donje strane i gledaju lupom ili na svjetlosnom mikroskopu pod malim povećanjem (HABRUN, 2014.). Na čvrstim hranjivim podlogama nakon višednevne inkubacije (3-7 dana) izrastu malene kolonije promjera 1mm, osebujnog oblika, gušćeg središnjeg dijela koji uraštava u hranjivu podlogu i tanki, prozirni periferni dio (slika 2.) (NAGLIĆ i sur., 2005.). Kolonije mikoplazama, posebice one stare nekoliko dana, vidljive su golim okom, ali je potrebna mikroskopska pretraga kako bi se potvrdio tipičan izgled kolonija nalik jajetu pečenom „na oko“. Sam izgled kolonija od malog je dijagnostičkog značaja za mikoplazme pasa i nije

dovoljan za točnu identifikaciju vrste (CHALKER, 2005.). Identifikaciju dodatno otežavaju neke vrste bakterija, kao što su *Escherichia coli* i *Bacillus subtilis*, a koje mogu izrasti na podlogama namijenjenim za uzgoj mikoplazama. Zbog djelovanja antibiotika dodanih u podlogu, a koji sprječavaju sintezu stanične stijenke, te bakterije mogu tvoriti L-oblike kolonija koje nalikuju kolonijama mikoplazama. Kako bi razlikovali L-oblike kolonija tih bakterija od kolonija mikoplazama, potrebno je poraslu kulturu nekoliko puta uzastopno uzgojiti na tekućoj hranjivoj podlozi bez inhibitora sinteze stanične stijenke u tijeku kojega će se L-oblici vratiti u izvorni oblik od kojeg su nastali, dok će mikoplazme zadržati tipičan oblik 'jajeta na oko' (slika 3.) (NAGLIĆ i sur., 2005.).

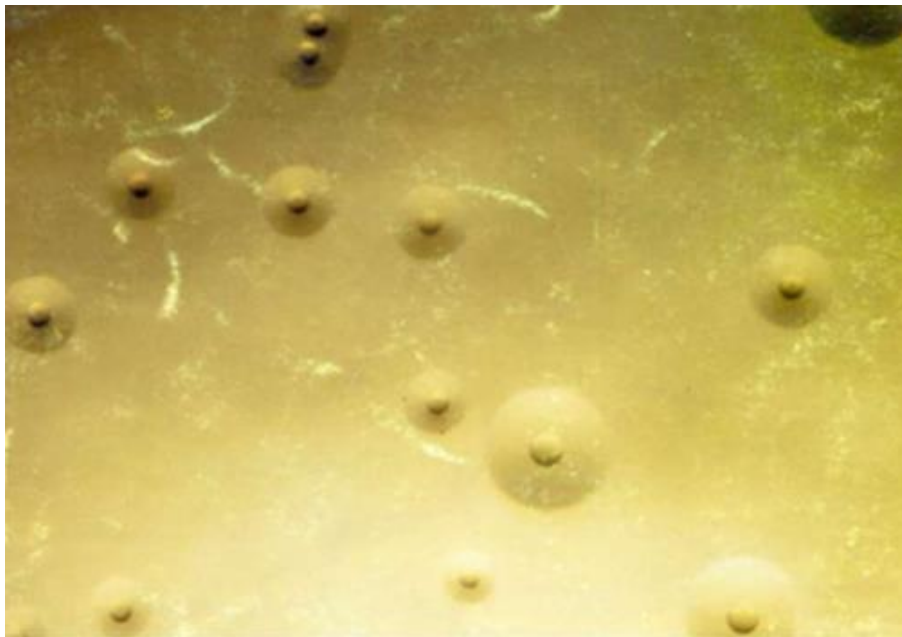
Slika 2. Presjek kolonije koji prikazuje rast mikoplazme na površini i ispod površine hranjive podloge (MARKEY i sur., 2013.).



U svrhu identifikacije do razine roda istražuje se osjetljivost na digitonin, provodi se modificirani test tvorbe ureaze te određuje veličina kolonija (HABRUN, 2014.). Precizna identifikacija do vrste iznimno je zamršen i dugotrajan postupak i zahtijeva korištenje sofisticiranih tehnika kao što su: metoda fluorescirajućih protutijela, fluorescencija (direktna i indirektna), ELISA, gel difuzijski test, metode bazirane na PCR-u, uporaba biokemijskih testova (fermentacija glukoze, hidroliza arginina, aktivnost fosfataze i redukcija tetrazolina), reakcije inhibicije rasta i metabolizma (MARKEY i sur., 2013.). Unatoč relativno lakom uzgoju mikoplazama pasa, veterinari rijetko zahtjevaju izdvajanje mikoplazama u kliničkim uzorcima dobivenim od pasa te samo mali broj laboratorija rutinski uzgaja mikoplazme. Razlog tome su kompleksne i skupe podloge potrebne za uzgoj mikoplazama.

U novije vrijeme u laboratorijima se sve češće upotrebljava PCR tehnologija što će pobošljati identifikaciju mikoplazama te potaknuti veterinare na češće dijagnosticiranje mikoplazmoza (CHALKER, 2005.).

Slika 3. Kolonije vrste *Mycoplasma bovis* (iz zbirke Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu)





### 2.3. Infekcije i bolesti u pasa uzrokovane mikoplazmama

Nalaz kliničke pretrage u pasa oboljelih od mikoplazmoze ovisi o organskom sustavu koji je zahvaćen te o drugim bolestima od kojih istovremeno boluje (SYKES, 2014.). Mikoplazmoze pasa mogu uzrokovati različite vrste roda *Mycoplasma*. Najčešće mikoplazme u pasa su *M. cynos*, izolirana iz uginule štenadi i *M. canis*, izdvojena je iz respiratornog, urinarnog i reproduktivnog trakta (MAY, 2009.). Kao i ostale mikoplazme, tako i mikoplazme pasa i mačaka imaju sposobnost prijanjanja na stanice domaćina, ali nije u potpunosti poznato imaju li adhezine vrsno specifične za svoje domaćine (SYKES, 2014.).

#### 2.3.1. Infekcije i bolesti respiratornog sustava

Smatralo se da su mikoplazme dio fiziološke mikroflore gornjeg respiratornog trakta u pasa, ali postoje istraživanja gdje je dokazana prisutnost mikoplazama i u donjem respiratornom traktu zdravih pasa (HONG, 2012.). Samo 20-25% zdravih pasa nosi mikoplazme u traheji ili plućima (CHALKER, 2005.). Mikoplazme su izdvojene iz pasa mlađih od godine dana oboljelih od plućnih bolesti u 78% slučajeva (RANDOLPH i sur., 1993.). Osim mikoplazama, iz pluća pasa oboljelih od pneumonije izdvojene su i ureaplazme (BALL i sur., 1982.). Rijedak je slučaj da se mikoplazme izoliraju iz pleuralnog izljeva pasa i mačaka u čistoj kulturi (SYKES, 2014.). Različite vrste mikoplazama mogu biti izolirane po cijeloj duljini respiratornog trakta (CHALKER i sur., 2004.).

Kao i drugi mikrobi u respiratornom sustavu, mikoplazme se najčešće prenose kašljanjem, kihanjem, kontaktom „nos na nos“ pasa koji žive na malom prostoru (VIESON i sur., 2012.).

Nije u potpunosti razjašnjeno jesu li mikoplazme primarni ili sekundarni uzročnici infekcije u pasa oboljelih od pneumonije unatoč istraživanjima u kojima su mikoplazme izolirane kao čista kultura iz uzoraka uzetih iz respiratornog sustava pasa (CHALKER, 2005.). Mikoplazme se često izdvajaju zajedno sa psećim herpesvirusom, psećim reovirusom (tip 1, 2 i 3), bakterijama kao što su *Streptococcus* spp., *Pasteurella* spp., *Pseudomonas* spp. i koliformne bakterije, kao uzročnici respiratornih infekcija gornjeg dišnog trakta (VIESON i sur., 2012.).

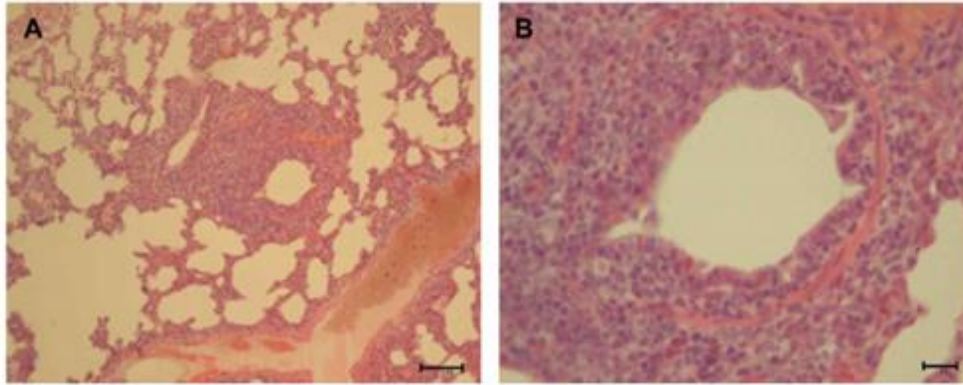
Uloga pojedinih vrsta mikoplazama u infekcijama respiratornog sustava nije u potpunosti shvaćena. Iz pasa oboljelih od bolesti respiratornog sustava izolirane su sljedeće mikoplazme: *M. bovis genitalium*, *M. canis*, *M. cynos*, *M. edwardii*, *M. feliminutum*, *M. gateae* i *M. spumans* (HONG, 2012.). Infekcije respiratornog trakta uzrokovane mikoplazmama mogu

rezultirati iscjetkom iz nosa, kihanjem, sa ili bez konjunktivitisa. Nakon kraćeg vremena pojavljuje se intermitentna vrućica, tahipneja i kašalj. Auskultacijski se mogu otkriti pooštreni dišni šumovi nad parenhimom pluća. Pojedini pacijenti gube apetit, letargični su i posljedično tome gube na tjelesnoj težini (SYKES, 2014.).

Zarazni kašalj pasa (eng. kennel cough, CIRDC, tracheobronchitis infectiosa) je kompleksna zarazna bolest, a uzrokuje ju više različitih patogena koji sinergističkim djelovanjem mogu pogoršati simptome bolesti (APPEL i sur., 1987.). Većina prijašnjih istraživanja nije uključivala mikoplazme kao potencijalne uzročnike zaraznog kašlja pasa. Nekoliko vrsta mikoplazama je ipak izdvojeno iz bolesnih pasa, a kasnije je dokazano da je vrsta *M. cynos* povezana sa CIRDC-om (canine infectious respiratory disease) (CHALKER i sur., 2004.).

Mlađi psi su podložniji infekciji vrstom *M. cynos* od starijih pasa (CHALKER i sur., 2004.). U kombinaciji s virusima, *M. cynos* tvori multietiološki kompleks (VIESON i sur., 2012.). U eksperimentalnim uvjetima učinjena je endobronhijalna infekcija vrstom *M. cynos*, a očitovala se pneumonijom, destrukcijom i gubitkom trepetljika epitela i infiltracijom alveola neutrofilima i makrofagima (CHALKER, 2005.). Također je dokazano da se *M. cynos* zadržava u plućima nositelja do 3 tjedna poslije infekcije (HONG i sur., 2012.). Hong i sur. (2012.) su proveli istraživanje koje je uključivalo 20 pasa pasmine „beagle“ zaraženih mikoplazmama te su nakon završenog eksperimenta uočili respiratorne simptome u samo jednog psa. Isti je pas eutanaziran i učinjena je patološko-anatomska pretraga na kojoj su pronađena siva do sivoružičasta područja na površini plućnog parenhima, neke lezije bile su demarkirane i konsolidirale su. Mikroskopski je pronađena peribronhiolarna limfoidna hiperplazija i zadebljanje intersticija (slika 4.), lezije koje su patognomonične za mikoplazmatske pneumonije što je kasnije i potvrđeno PCR-om.

Slika 4. Izolacija vrste *M. cynos* iz laboratorijskih pasa pasmine „beagle“ (HONG i sur., 2012.). 4A - vidljiva je peribronhiolarna limfoidna hiperplazija i zadebljanje intersticija, HE bojenje; 4B - vidljiv je limfocitni i mononuklearni infiltrat u peribronhiolarnim područjima zahvaćenim lezijom, HE bojenje.



Gotovo svi psi i mačke nositelji su mikoplazama u svojem gornjem dijelu respiratornog trakta (SYKES, 2014.), ali eksperimentalna infekcija vrstama *M. canis*, *M. gateae* i *M. spumans* nije uspjela izazvati respiratornu bolest u pasa. Uloga ostalih mikoplazama u razvoju bolesti dišnog sustava tek treba biti otkrivena (CHALKER, 2005.).

### 2.3.2. Infekcije i bolesti mokraćno-spolnog sustava

Čak 30-50% pasa i 23-75% kuja nosi mikoplazme u svojem genitalnom traktu pa su česte mješovite infekcije uzrokovanih mikoplazmama i drugim bakterijama (BINDER i sur., 1986.). Vrste rodova *Mycoplasma* i *Ureaplasma* izdvojene su iz sjemene tekućine i urina sterilnih pasa i pasa oboljelih od purulentnog epididimitisa (SYKES, 2014.). Usprkos dugotrajnoj terapiji antibioticima, vrsta *M. canis* izolirana je iz sterilnih pasa oboljelih od bolesti urogenitalnog sustava. Ista mikoplazma izolirana je i iz prostate, epididimisa i kronično upaljenog mokraćnog mjehura (CHALKER, 2005.).

Doig i suradnici (1981.) izdvojili su nekoliko vrsta mikoplazama iz vagine i prepucija te postavili sumnju na povezanost ureaplazmi sa sterilitetom u mužjaka. Ulogu mikoplazama u infekcijama reproduktivnog sustava u pasa i mačaka teško je procijeniti jer se često mikoplazme mogu dokazati i na sluznicama zdravih životinja (SYKES, 2014.). Infekcije urinarnog trakta uzrokovane mikoplazmom mogu se očitovati simptomima od strane donjeg dijela mokraćnog sustava kao što su hematurija ili strangurija, a psi oboljeli od takve infekcije

češće razvijaju neoplazije urinarnog trakta, kalkulozu i neurološke poremećaje (SYKES, 2014.).

### 2.3.3. Infekcije i bolesti krvožilnog sustava

Infekcije uzrokovane vrstom *M. haemocanis* zabilježene su u pasa diljem svijeta, u Sjedinjenim Američkim Državama, Europi, Kanadi i Velikoj Britaniji (SENEVIRATNA i sur., 1973.). Prevalencija infekcije u svijetu varira od 0,5-40% (do NASCIMENTO i sur., 2012.). Vrsta *M. haemocanis*, prije svrstana u rod *Haemobartonella*, nedavno je prebačena u porodicu *Mycoplasmataceae* na temelju analize 16S rRNA (MESSICK i sur., 2002.). Budući da hematotropne mikoplazme prijanjaju na površinu crvenih krvnih zrnaca, uzrokuju hemolitičku anemiju, najčešće u imunokompromitiranih jedinki ili onih koje su izložene stresu (CHALKER, 2005., HABRUN, 2014.). Izvor infekcije su oboljele životinje i kliconoše, a prijenos ovih bakterija vrši se preko krpelja *Rhipicephalus sanguineus* (HABRUN, 2014., MESSICK, 2003.).

Akutni tijek infekcije uzrokovane hematotropnim mikoplazmama karakteriziran je naglim razvojem anemije, češće u imunokompromitiranih ili splenektomiranih pasa (CHALKER, 2005.). Infekcije hemoplazmama uzrokuju žuticu (slike 5. i 6.), splenomegaliju i hiperplaziju koštane srži (HABRUN, 2014.). Prateći simptomi mogu uključivati letargiju, gubitak tjelesne težine, a u nekim slučajevima vrućicu i anoreksiju. U težim slučajevima dolazi do akutne hemolitičke anemije. U nekih pasa uzrokovala je smrt (CHALKER, 2005.). Nadalje, postoje neki podaci u starijim istraživanjima koji navode da vrsta *M. haemocanis* može uzrokovati infekciju u mačaka, dok vrsta *Mycoplasma haemofelis* ne može uzrokovati infekciju u pasa (do NASCIMENTO i sur., 2012.).

Slika 5. Žuto obojena gingivalna sluznica u psa uslijed hemolitičke anemije (ARCHER i sur., 2013.)



Slika 6. Žuto obojena episklera u psa uslijed hemolitičke anemije (ARCHER i sur., 2013.)



#### 2.3.4. Infekcije i bolesti živčanog sustava

Mikoplazme su rijetko bile povezivane s bolestima središnjeg živčanog sustava (TALARICO i sur., 2010.). Međutim, dokazano je da mogu prodrijeti u središnji živčani sustav preko ubodnih rana, ascendentnih infekcija iz unutarnjeg uha ili hematogeno (SYKES, 2014.). Iz SŽS-a životinje s granulomatoznim meningoencefalomijelitisom i nekrotizirajućim meningoencefalitisom izdvojena je vrsta *M. canis*, ali značaj njenog pronalaska nije u potpunosti razjašnjen. Ova mikoplazma može biti povezana s primarnom bolešću ili biti prisutna kao sekundarni patogen u prethodno inficiranog ili imunosuprimiranog pacijenta (BARBER i sur., 2012.). Istraživanje koje su proveli Barber i suradnici 2012. godine, donosi rezultate koji ukazuju na nepovezanost virusnih patogena i infekcije SŽS-a te nastanak granulomatoznog meningoencefalomijelitisa i nekrotizirajućeg meningoencefalitisa, ali oni također naglašavaju kako je potrebna daljnja evaluacija uloge *M. canis* u nastanku navedenih poremećaja.

Nadalje, vrsta *M. edwardii* je nedavno opisana kao uzročnik meningoencefalitisa u pasa (ILHA i sur., 2010.). Izolirana je iz mozga 6 tjedana starog psa koji je imao epileptoidne napadaje (SYKES, 2014.), a slučaj su opisali Ilha i suradnici 2010., te naveli patoanatomske promjene nakon eutanazije u području lubanje, mozga i moždanih ovojnica (slika 7.).

Pojava meningitisa u tek rođene štenadi povezuje se s infekcijom mikoplazmama koja nastaje u porođajnom kanalu ili za vrijeme intrauterinog razvoja (ILHA i sur., 2010.).

Slika 7. Nakupina purulentnog eksudata na bazi lubanje (strjelica) nakon uklanjanja mozga i moždanih ovojnica, vidljiva je difuzna kongestija u području periosteuma (ILHA i sur., 2010.)



### 2.3.5. Ostale infekcije i bolesti uzrokovane mikoplazmama

Postoje izolirani slučajevi poliartritisa uzrokovanih infekcijom vrstama *M. spumans* i *M. edwardii* (u pasa) i *M. gateae* i *M. felis* (u mačaka). U povijesti bolesti pasa i mačaka oboljelih od mikoplazmatskog poliartritisa nalazi se dokaz imunokompromitiranosti, moguće neoplastične bolesti u pozadini, operativnog zahvata i terapije glukokortikoidima. Sistemski znakovi koji se uglavnom javljaju su letargija, vrućica, te inapetencija uz hromost. Mikoplazmatski poliartritis rezultira kroničnim poliartritisom koji se ne može razlikovati od idiopatskog imuno-posredovanog neerozivnog poliartritisa (NELSON i sur., 2014.). Može biti praćen vrućicom, boli i otečenjem zglobova, a ponekad i lokalnom limfadenopatijom (SYKES, 2014.). Nažalost, izvor mikoplazama u organizmu kao uzročnika septikemije i poliartritisa u pasa nije moguće utvrditi (STENSKE i sur., 2005.).

Stenske i suradnici su 2005. godine objavili klinički slučaj u kojem je kuji staroj 12 godina učinjena bilateralna adrenalektomija, a postoperativno su iz krvi i sinovijalne tekućine izolirali mikoplazme. Izolati su bili identificirani samo kao vrste iz roda *Mycoplasma* prema njihovom makroskopskom i mikroskopskom izgledu te osjetljivosti na digitonin na uobičajenoj podlozi za izdvajanje mikoplazama. Stoga autori upozoravaju da mikoplazme treba uzeti u obzir prilikom određivanja antimikrobne terapije koja se primjenjuje postoperativno nakon

bilateralne adrenalektomije jer su sposobne uzrokovati septikemiju i septički poliartritis u pasa (STENSKE i sur., 2005.).

Istraživanje provedeno 2005. godine pokazalo je da 30% pasa nosi mikoplazme u kolonu kao dio fiziološke mikroflore (CHALKER, 2005.). Bowe i suradnici (1982.) su pokušali eksperimentalno reproducirati kolitis u pasa pomoću soja mikoplazme HRC689. Iako su pronađene lezije unutar kolona, nije potpuno jasno jesu li one artefakti eksperimentalne infekcije ili pravi znak bolesti (CHALKER, 2005.).

#### 2.4. Dijagnostika mikoplazmoza u pasa

U pasa i mačaka s mikoplazmatskom infekcijom, kompletna krvna slika, biokemijski profil i pretraga urina ne pokazuju dovoljnu specifičnost da bi se postavila točna dijagnoza i često je nalaz pod utjecajem bolesti u pozadini (imunokompromitirajuće bolesti) (SYKES, 2014.). Kliničko-patološki i nalaz ancilarne slikovne dijagnostike povezan s infekcijama vrstama iz rodova *Mycoplasma* i *Ureaplasma*, sličan je kao i u infekcija uzrokovanih drugim bakterijama. Neutrofilija i monocitoza su česte u pasa oboljelih od pneumonije, a pijurija i proteinurija zabilježeni su u pasa s infekcijom urinarnog trakta (NELSON i sur., 2014.). Stenske i suradnici u svom radu iz 2005. godine opisuju slučaj mikoplazmatske septikemije, a laboratorijski nalazi pokazivali su povišenu vrijednost alkalne fosfataze (ALP), hipoalbuminemiju i hipokalijemiju. Psi i mačke oboljeli od pneumonije, mikoplazmatske bakterijemije i poliartritisa mogu imati neutrofiliju s pomakom u lijevo uz nalaz toksičnih neutrofila, blagu neregenerativnu anemiju, hipoalbuminemiju i disfunkcije organa uz povišene vrijednosti jetrenih enzima i azotemiju (SYKES, 2014.).

Prepucijalni i vaginalni iscjedak, kronične rane koje dreniraju, nosni iscjedak i sinovijalna tekućina pasa inficiranih s vrstama iz rodova *Mycoplasma* i *Ureaplasma* u svojem sadržaju imaju najčešće nedegenerirane neutrofile. Psi koji boluju od bolesti donjeg respiratornog trakta s mikoplazmama izdvojenima u čistim kulturama, imaju rendgenološki vidljiv alveolarni plućni crtež koji se ne može diferencirati od onih u pasa s mješovitim bakterijskim infekcijama (NELSON i sur., 2014.). Mikoplazmatska pneumonija može biti



karakterizirana intersticijskim ili alveolarnim crtežom ili konsolidacijom režnja pluća, a ponekad može biti praćena i pleuralnim izljevom vidljivim na rendgenogramu. Zglobovi pasa i mačaka oboljelih od mikoplazmatskog poliartritisa na rendgenogramima mogu pokazivati otećenje periartikularnog mekog tkiva. Opisivane su i erozivne promjene u subhondralnom dijelu kosti (SYKES, 2014.), dok se u pojedinim kliničkim slučajevima rendgenološki dijagnosticiraju i erozivne i neerozivne promjene (ZEUGSWETTER i sur., 2007.).

Uzorci (obrisi, strugotine sluznica i dr.) koji se pretražuju na mikoplazme, trebaju biti pohranjeni na led i transportirani do laboratorija u vremenskom roku manjem od 24 sata ili na suhom ledu ukoliko se očekuje dostava u vremenu dužem od 24 sata (NELSON i sur., 2014.).

Kolonije mikoplazama izraslih na uobičajenim podlogama za njihovo izdvajanje često nisu vidljive svjetlosnim mikroskopom zbog vrlo malih dimenzija. Stanice mikoplazama ne boje se po Gramu jer nemaju stanične stijenke što dodatno otežava postupak identifikacije potrebne za postavljanje dijagnoze. Citološkom pretragom zahvaćenih tkiva ili tjelesnih tekućina (bronhoalveolarna tekućina dobivena lavažom, sinovijalna tekućina i cerebrospinalni likvor) mogu se uočiti neutrofilni, rjeđe histiociti i limfociti, dok je histopatološki najčešće vidljiva neutrofilna infiltracija, a mogu biti prisutni i histiociti (SYKES, 2014.).

Dijagnostika se temelji na uzgoju i izdvajanju mikoplazama na za to predviđenim hranjivim podlogama. Sam postupak je dugotrajan, a rezultati mogu biti nejasni. Stoga se u novije vrijeme sve više provode molekularne metode dijagnostike, odnosno PCR koji omogućava brzi dokaz mikoplazama u odgovarajućim uzorcima, metoda je znatno osjetljivija i može biti vrsno specifična (SYKES, 2014.), no pozitivan rezultat ne potvrđuje da je mikroorganizam još uvijek živ u nositelju (NELSON i sur., 2014.).

S obzirom da vrste *Mycoplasma* i *Ureaplasma* mogu biti izolirane iz zdravih životinja, interpretacija nalaza mikoplazama u bolesnih životinja je teška. Odgovor na terapiju pojedinih lijekova za koje se pouzdano zna da djeluju protiv mikoplazama i ureaplazama mogu pomoći u postavljanju dijagnoze bolesti (NELSON i sur., 2014.).

Laboratorijska dijagnostika infekcija hematotropnim mikoplazmama sačinjena je od slanja uzoraka na pretragu, izravnog mikroskopiranja (hematotropne mikoplazme se slabo boje prema Gramu, zato se razmaz mora obojiti prema Giemsi), izdvajanja i uzgoja te molekularnih postupaka (HABRUN, 2014.).

## 2.5. Načela terapije infekcija i bolesti uzrokovanih mikoplazmama u pasa

Zbog svoje karakteristične građe mikoplazme su rezistentne na betalaktamske antibiotike i prolongirana terapija betalaktamima može zakomplicirati infekciju (CHALKER, 2005.). Test osjetljivosti na antibiotike za mikoplazme nije u rutinskoj primjeni (SYKES, 2014). Vieson i suradnici u svojem radu iz 2012. godine za terapiju zaraznog kašlja pasa (jedan od uzročnika je mikoplazma) predlažu simptomatsku terapiju antitusicima (derivati kodeina), bronhodilatatorima (teofilin, aminofilin), unosom dovoljne količine tekućine i adekvatnim unosom kalorija. Terapija bolesti donjeg respiratornog sustava trebala bi trajati 4 do 6 tjedana (NELSON i sur., 2014.).

Tilozin, eritromicin, klindamicin, linkomicin, tetraciklini, kloramfenikol, aminoglikozidi i fluorokinoloni su antibiotici izbora za liječenje infekcija uzrokovanih vrstama iz rodova *Mycoplasma* i *Ureaplasma* (NELSON i sur., 2014.) Međutim, zabilježena je rezistencija na neke od navedenih antibiotika (STENSKE i sur., 2005.) kao što su trimpetoprim-sulfonamid kombinacije i rifampicin te makrolidi (SYKES, 2014.).

Doksiciklin apliciran peroralno u dozi od 5 do 10 mg po kilogramu tjelesne mase svakih 12 do 24 sata, uglavnom je učinkovit u imunokompetentnih životinja, u onih koje su van životne opasnosti, a uz to djeluje i antiinflamatorno (NELSON i sur., 2014.). U životinja s mješovitim infekcijama u kojima uz mikoplazme sudjeluju i gram-negativne bakterije, onih u životnoj opasnosti ili sumnjivih na tetraciklin-rezistentne bakterije, fluorokinoloni ili azitromicin mogu biti dobra alternativna antibiotska terapija (NELSON i sur., 2014.). Nije u potpunosti razjašnjeno zašto enrofloksacin nije bio učinkovit u terapiji pasa oboljelih od mikoplazmoze, a pretpostavlja se da bi pravovremena primjena lijeka u visokim dozama bila učinkovita protiv pacijentove fulminantne infekcije (STENSKE i sur., 2005.). Preporučene antimikrobne tvari za liječenje mikoplazmoza pasa, te njihovo doziranje i način primjene nalaze se u tablici 2.

U gravidnih životinja za antimikrobnu terapiju mikoplazmoza preporučaju se eritromicin apliciran peroralno u dozi od 20 mg/kg svakih 8 do 12 sati ili linkomicin peroralno u dozi od 22 mg/kg svakih 12 sati, (NELSON i sur., 2014.).

Optimalno trajanje terapije nije određeno, ali potrebno je terapiirati pacijenta kroz najmanje 2 tjedna (SYKES, 2014.). Zbog mogućeg razvoja rezistencije, pravovaljana

antimikrobna terapija treba biti započeta odmah empirijski dok se čekaju rezultati uzgoja mikoplazama na čvrstim hranjivim podlogama (STENSKE i sur., 2005.).

Infekcije hematotropnim mikoplazmama liječe se tetraciklinskim antibioticima (oksitetraciklin, doksiciklin) (HABRUN, 2014.).

Tablica 2. Preporučena antimikrobna terapija za mikoplazmalne infekcije u pasa (SYKES, 2014.)

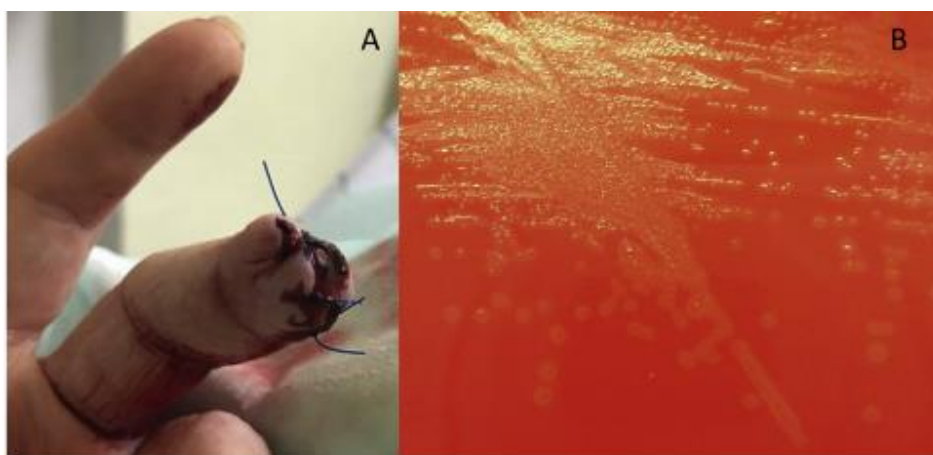
<b>LIJEK</b>	<b>DOZA (mg/kg)</b>	<b>NAČIN APLIKACIJE</b>	<b>INTERVALI (sati)</b>
<b>doksiciklin</b>	5 do 10	p/o ili i/v	12 do 24
<b>enrofloksacin</b>	5	p/o ili i/v	24
<b>marbofloksacin</b>	2.75 do 5.5	p/o	24
<b>pradofloksacin</b>	3	p/o	24

## 2.6. Mikoplazme pasa kao uzročnik bolesti ljudi

Vrsta *M. canis* pronađena je u zdravih krava i u onih koje su bolovale od respiratornih bolesti, a također je izolirana iz ljudi s infekcijama respiratornog sustava (ARMSTRONG i sur., 1971.). Kolonizacija ždrijela čovjeka vrstom *M. canis* potvrđena je u članova obitelji koji su imali psa kao kućnog ljubimca (SYKES, 2014.). Vrsta *M. maculosum* izolirana je iz čovjeka oboljelog od meningitisa (CHALKER, 2005.). Vrsta *M. arginini* izolirana je iz niza nositelja sa znakovima pneumonije uključujući koze, ovce, zdrave mačke i deve te imunokompromitiranih ljudi (CHALKER, 2005.). Hipogamaglobulinemija, humani virus imunodeficijencije, neoplazije, postpartalno razdoblje i imunosupresivna terapija mogu biti potencijalni rizici koji kod ljudi dovode do pojave mikoplazmatske bakterijemije (STENSKE i sur., 2005.).

Najnoviji slučaj izolacije mikoplazme iz uzorka podrijetlom od čovjeka bio je slučaj izdvajanja vrste *M. canis* iz tkiva nakon ugriza psa što je prvi slučaj izdvajanja ove vrste iz uzorka podrijetlom od čovjeka (KLEIN i sur., 2018.). Radilo se o 62-godišnjoj pacijentici koja je podvrgnuta amputaciji distalne falange trećeg prsta lijeve ruke nakon ugriza psa (slika 8.), a prilikom druge operacije uzeti su uzorci tkiva za mikrobiološku pretragu koja je pokazala da je uzročnik infekcije *M. canis*. Pacijentica nije primala antimikrobnu terapiju protiv mikoplazama već je uspješno izliječena nakon drugog debridmana rane.

Slika 8. Rana na prstu nakon operativnog uklanjanja falange u čovjeka (A), kolonije vrste *M. canis* na Columbia agaru s dodatkom ovčje krvi nakon 48-satne mikroaerofilne inkubacije (B) (KLEIN i sur., 2018.)



### 3.0. RASPRAVA

Mikoplazme su najjednostavniji i najmanji prokariotski organizmi koji se mogu samostalno razmnožavati. U razred *Mollicutes* uvršteno je 5 rodova mikoplazama važnih za veterinarsku medicinu. Porodica *Mycoplasmataceae* obuhvaća dva medicinski važna roda, *Mycoplasma* i *Ureaplasma*, te rodove *Haemobartonella* i *Eperythrozoon*, hematoplazme ili hemoplazme koje su nekad smatrane rikecijama, a „paraziti“ su na crvenim krvnim stanicama. Mikoplazme su izdvojene iz svih vrsta domaćih životinja, mnogih vrsta divljih životinja, ptica, ljudi, insekata, biljaka i gmazova. Kozmopolitski su mikrobi, a mogu obitavati u organizmu primljivih domaćina kao komenzali na sluznicama dišnog, mokraćno-spolnog i probavnog sustava. Prijenos hematoplazama odvija se pomoću artropoda, dok se ostale mikoplazme mogu prenositi aerosolom, veneralno ili vertikalno, moguć je čak i prijenos ptičjih mikoplazama putem jaja. Uzrokuju kronične, slabo izražene infekcije. Najčešće zahvaćaju respiratorni trakt i pluća.

Zbog nedostatka čvrste stanične stijenke, mikoplazme su pleomorfne. Stanice mogu imati kuglasti, nitasti, zavojit ili prstenast oblik. Fleksibilne su, vrlo malih dimenzija, mogu kontaminirati stranične kulture za uzgoj virusa. Iz prethodnog prikaza podataka literature možemo zaključiti da su mikoplazme vrlo zahtjevne i izbirljive bakterije sa relativno malim genomom i smanjenom mogućnošću sinteze esencijalnih tvari. Jedni su od mikroba koje je najteže uzgojiti u laboratoriju. Kolonije koje tvore vrlo su specifičnog izgleda te podsjećaju na „jaje na oko“. Fakultativni su anaerobi, a najbolje rastu u atmosferi s povećanom količinom ugljičnog dioksida.

Pojedine mikoplazme proizvode egzotoksine, a za pojedine se smatra da nanose štetu primljivom domaćinu zbog produkcije kisikovih reaktivnih spojeva i vodikovog peroksida. Mogu proizvoditi tvari nalik endotoksinima, pomoću kojih alarmiraju makrofage na lučenje biomedijatora upale kao što su citokini interleukin 1 i 6. Budući da imaju sposobnost promjene površinskih proteina, brzo se privikavaju na stanice nositelja i izbjegavaju učinkovit imunski odgovor.

S obzirom da je velik broj navedenih mikoplazama izdvojen iz različitih domaćina, termin 'mikoplazme pasa' je relativan. Spekter mikoplazama koje uzrokuju ili mogu uzrokovati infekcije u pasa i mačaka nije u potpunosti razjašnjen zbog težine identifikacije pojedinih vrsta.

Smatra se da će se pojedine vrste mikoplazama pasa i mačaka tek otkriti upotrebom molekularnih metoda u budućnosti.

Najčešće su povezane s keratokonjunktivitisom i/ili respiratornom bolesti gornjeg dišnog sustava u mačaka, bolestima reproduktivnog sustava i urinarnog trakta u pasa, bolestima donjeg dišnog sustava i infekcijama mekih tkiva, meningoencefalitisom u pasa i mačaka. Mikoplazme se pojavljuju kao sekundarni uzročnici na već prisutnu bakterijsku ili virusnu infekciju.

Uzgoj mikoplazama na umjetnoj hranjivoj podlozi za sada ostaje najčešće korištena metoda detekcije prisutnosti mikoplazama u uzorcima dobivenim od pasa. Većina mikoplazama pasa raste brzo (1-2 dana od primarne izolacije) na komercijalno dostupnim čvrstim umjetnim podlogama za izdvajanje mikoplazama, u aerobnim uvjetima pri temperaturi od 37°C. Kolonije mikoplazama specifičnog su izgleda nalik jajeta pečenog „na oko“, ali nisu dovoljno specifične za identifikaciju vrste.

Mikoplazmoze pasa mogu uzrokovati različite vrste roda *Mycoplasma*. Najčešće i najbolje opisane mikoplazme u pasa su vrste *M. cynos* i *M. canis*. Klinički se najčešće očituju nespecifičnim znakovima bolesti (vrućica, letargija, gubitak apetita) uz simptome zahvaćenog organskog sustava. U literaturi su opisane infekcije i bolesti respiratornog, mokraćno-spolnog, živčanog, krvožilnog sustava te artritis i septikemije.

Brojna literatura predlaže simptomatsku terapiju uz terapiju antimikrobnim sredstvima. Primjerice, respiratorna infekcija ili pneumonija zahtijeva terapiju antitusicima (derivati kodeina), bronhodilatatorima (teofilin, aminofilin), unosom dovoljne količine tekućine i adekvatnim unosom kalorija. Mikoplazme pasa su zbog nedostatka čvrste stanične stijenke prirodno rezistentne na penicilinske i cefalosporinske antibiotike. Zbog toga je izbor antibiotika za liječenje mikoplazmoza pasa sveden na tetracikline, linkomicin, eritromicin, klindamicin, kloramfenikol, aminoglikozide, fluorokinolone i tilozin. Minimalno trajanje terapije iznosi 2 tjedna.

Dokazano je postojanje zoonotskog potencijala pojedinih vrsta mikoplazama pasa. Vrlo je važno napomenuti da su ljudi koji su bolovali od infekcija ili bolesti uzrokovanih mikoplazmama pasa, živjeli u uskoj kohabitaciji sa psima kao kućnim ljubimcima ili bili ugriženi od pasa.

#### 4.0. ZAKLJUČCI

Temeljem dosadašnjih istraživanja i saznanja o mikoplazmama pasa, mogu se donijeti sljedeći zaključci:

1. Mikoplazme pasa su bakterije bez stanične stijenke otporne na peniciline i cefalosporine.
2. Mikoplazme pasa mogu se izolirati iz klinički zdravih pasa jer obitavaju kao komenzali na sluznicama respiratornog, urogenitalnog i probavnog trakta.
3. Uzgoj i identifikacija mikoplazama pasa vrlo je dugotrajan i zahtjevan proces s često neizvjesnim i nejasnim rezultatima.
4. Infekcije uzrokovane hematotropnim mikoplazmama pasa jednostavnije se dijagnosticiraju od ostalih vrsta mikoplazama zbog parazitiranja na crvenim krvnim stanicama.
5. Na mikoplazme pasa kao uzročnike bolesti treba posumnjati ukoliko infekcija u respiratornom, urogenitalnom i živčanom sustavu te septikemija i artritis, ne odgovaraju na inicijalnu terapiju uobičajenim antimikrobnim tvarima.
6. Terapija mikoplazmalnih infekcija pasa uglavnom je učinkovita ukoliko se koriste sljedeći antibiotici u propisanim dozama: tetraciklini, linkomicin, eritromicin, klindamicin, kloramfenikol, aminoglikozidi, fluorokinoloni i tilozin.
7. Postoji zoonotski potencijal pojedinih vrsta mikoplazama pasa.

## 5.0. LITERATURA

APPEL, M., L.N. BINN (1987): Chapter 19. Canine infectious tracheobronchitis short review: kennel cough, U: Virus Infections of Carnivores, Elsevier London, str. 201-211.

ARCHER, T., A. MACKIN (2013): Peer review: Diagnosis of immune-mediated hemolytic anemia, Today's Veterinary Practice 2013; 32-36.

ARMSTRONG, D., B.H. YU, A. YAGODA, M.F. KAGNOFF (1971): Colonisation of humans by *Mycoplasma canis*, Journal of Infectious Diseases, 124, 607-609.

BALL, H.J., D.G. BRYSON (1982): Isolation of ureaplasmas from pneumonic dog lungs, Veterinary Record 111, 585.

BARBER, R.M., B.F. PORTER, Q. LI, M. MAY, M.K. CLAIBORNE, A.B. ALLISON, E.W. HOWERTH, A. BUTLER, S. WEI, J.M. LEVINE, G.J. LEVINE, D.R. BROWN, S.J. SCHATZBERG (2012): Broadly Reactive Polymerase Chain Reaction for Pathogen Detection in Canine Granulomatous Meningoencephalomyelitis and Necrotizing Meningoencephalitis, J. Vet. Intern. Med. 26, 962-968.

BINDER, VON A., O. PLAGEMANN, R. VOGEL, H. KIRCHHOFF (1986): Nachweis einer bei Hunden bislang unbekanntes Mykoplasmenart bei Hündinnen mit Fertilitätsstörungen. Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift 90, 44-46.

BOWE, P.S., H.J. VAN KRUNINGEN, S. ROSENDAL (1982): Attempts to Produce Granulomatous Colitis in Boxer Dogs with a Mycoplasma, Can. J. comp. Med. 46, 430-433.

CHALKER, V.J. (2005): Canine mycoplasmas, Research in Veterinary Science, 79, 1-8.

CHALKER, V.J., W.M.A. OWEN, C. PATERSON, E. BARKER, H. BROOKS, A.N. RYCROFT, J. BROWNLIE (2004): Mycoplasmas associated with canine infectious respiratory disease, Microbiology, 150, 3491-3497.

Do NASCIMENTO, N.C., A.P. SANTOS, A.M. GUIMARAES, P.J. SANMIGUEL, J.B. MESSICK (2012): *Mycoplasma haemocanis* – the canine hemoplasma and its feline counterpart in the genomic era, Veterinary Research, 43, 66.



DOIG, P.A., H.L. RUHNKE, W.T.K. BOSU (1981): The Genital Mycoplasma and Ureaplasma Flora of Healthy and Diseased Dogs, *Can. J. comp. Med.* 45, 233-238.

HABRUN, B. (2014): 44. Razred Mollicutes (mikoplazme), U: Klinička veterinarska mikrobiologija, Medicinska naklada Zagreb i Hrvatski veterinarski institut Zagreb, str. 306-315.

HONG, S., O. KIM (2012): Molecular identification of *Mycoplasma cynos* from laboratory beagle dogs with respiratory disease, *Lab. Anim. Res.* 28 (1), 61-66.

ILHA, M.R.S., S. RAJEEV, C. WATSON, M. WOLDEMESKEL (2010): Meningoencephalitis caused by *Mycoplasma edwardii* in a dog, *J. Vet. Diagn. Invest.* 22: 805-808.

KLEIN, S., M KLOTZ, T. EIGENBROD (2018): First isolation of *Mycoplasma canis* from human tissue samples after a dog bite, *New Microbe and New Infect.* 25, 14-15.

MARKEY, B., F. LEONARD, M. ARCHAMBAULT, A. CULLINANE, D. MAGUIRE (2013): Chapter 35 The Mycoplasmas (class: mollicutes), U: *Clinical Veterinary Microbiology*, 2<sup>nd</sup> edition, Mosby Elsevier, London, New York, Oxford, Philadelphia, St. Louis, Sydney, Toronto, str. 423-431.

MAY, M., D. R. BROWN (2009): Secreted Sialidase Activity of Canine Mycoplasmas, *Vet. Microbiol.* 12, 137(3-4), 380-383.

MESSICK, J.B. (2003): New perspectives about Hemotropic mycoplasma (formerly *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* species) infections in dogs and cats, *Veterinary Clinics of the North American Small Animal Practice*, 33, 1453-1465.

MESSICK, J.B., P.G. WALKER, W. RAPHAEL, L. BERENT, X. SHI (2002): *Candidatus mycoplasma haemodidelphidis* sp. nov., *Candidatus mycoplasma haemolamae* sp. nov. and *Mycoplasma haemocanis* comb. nov., haemotropic parasites from naturally infected opossum (*Didelphis virginiana*), alpaca (*Lama pacos*) and dog (*Canis familiaris*): phylogenetic and secondary structural relatedness of their 16S rRNA genes to other mycoplasmas, *International Journal of Systematic and Evolutionary Medicine*, 52, 693-698.

NAGLIĆ, T., D. HAJSIG, J. MADIĆ, LJ. PINTER (2005): 25. Mikoplazme (Razred Mollicutes), U: Veterinarska mikrobiologija: specijalna bakteriologija i mikologija, *Manualia*

*universitas studiorum Zagrabienis/Udžbenici Sveučilišta u Zagrebu, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, str. 138-167.*

NELSON, R.W., C.G. COUTO (2014): Chapter 92, Polysystemic Bacterial Diseases, Mycoplasma and Ureaplasma, U: Small Animal Internal Medicine, 5<sup>th</sup> edition, Mosby Elsevier, str. str. 1115, 1322-1324.

RANDOLPH, J.F., N.S. MOISE, J.M. SCARLETT, S.J. SHIN, J.T. BLUE, P.R. BOOKBINDER (1993): Prevalence of mycoplasmal and ureaplasma recovery from tracheobronchial lavages and prevalence of mycoplasmal recovery from pharyngeal swab specimens in dogs with or without pulmonary disease, Am. J. Vet. Res. 54(3), 387-391.

SENEVIRATNA, P., N. WEEASINGHE, S. ARIYADASA (1973): Transmission of *Haemobartonella canis* by the Dog Tick, *Rhipicephalus sanguineus*, Research in Veterinary Science, 14, 112-114.

SHOETENSACK, H.M. (1934): Pure cultivation of filterable virus isolated from canine distemper, Kitasako Archives Exp. Med. 11, 227-290.

STENSKE, K. A., D.A. BEMIS, K. HILL, D.J. KRAHWINKEL (2005): Acute Polyarthritis and Septicemia from *Mycoplasma edwardii* after Surgical Removal of Bilateral Adrenal Tumors in a Dog, J. Vet. Intern. Med. 19, 768-771.

SYKES, J.E.(2014): Chapter 40, Mycoplasma Infections, U: Canine and Feline Infectious Diseases, 5<sup>th</sup> edition, Mosby Elsevier, str. 382-389.

TALARICO, L.R., S.J. SCHATZBERG (2010): Idiopathic granulomatous and necrotising inflammatory disorders of the canine central nervous system: A review and future perspectives, J. Small Anim. Pract. 51, 138-149.

VIESON, M.D., P. PIÑEYRO, T. LEROITH (2012): A review of the pathology and treatment of canine respiratory infections, Veterinary Medicine: Research and Reports, 3, 25-39.

ZEUGSWETTER, F., K.M. HITTMAR, A.G. DE ARESPACOCCHAGA (2007): Erosive polyarthritis associated with *Mycoplasma gateae* in a cat, J. Feline Med. Surg. 9, 226-231.

## 6.0. SAŽETAK

### MIKOPLAZME PASA

Cilj ovog diplomskog rada bio je dati pregled mikoplazama izdvojenih iz uzoraka podrijetlom od pasa. Posebno smo se osvrnuli na etiološko značenje nalaza mikoplazama u pasa s različitim kliničkim očitovanjima, a rad je objedinio dosadašnja istraživanja o mikoplazmama pasa. U 40 godina, samo 50 publikacija obuhvatilo je polje mikoplazmologije pasa što pokazuje potrebu za daljnjim istraživanjima. Do sada je poznato 15 vrsta mikoplazama koje uzrokuju bolesti u pasa. Klinička očitovanja mikoplazmoza pasa su šarolika, počevši od respiratornih bolesti, bolesti urogenitalnog trakta i steriliteta, meningoencefalomijelitisa i meningoencefalitisa, teških anemija, septikemija do artritisa. Dijagnostika, izolacija i identifikacija ovih mikroba otežana je zbog specifičnih fizioloških osobina mikoplazama, rijetko se otkrivaju, a ne reagiraju na uobičajenu terapiju antimikrobnim sredstvima. Liječe se uglavnom tetraciklinskim antibioticima, a urođeno su rezistentne na penicilinske i cefalosporinske antibiotike. Budući da je u nekoliko navrata dokazana prisutnost mikoplazama pasa u ljudi, smatra se da su to bakterije sa zoonotskim potencijalom koji tek treba istražiti.

**KLJUČNE RIJEČI:** mikoplazme, pas, antimikrobna terapija, rezistencija, zoonoze

## **7.0. SUMMARY**

### **CANINE MYCOPLASMAS**

The aim of this graduate thesis was to provide a review of isolated mycoplasmas from canine samples. We have specifically considered the aethiological significance of mycoplasmic findings in dogs with different clinical manifestations, and this work has united past researches of canine mycoplasmas. In 40 years there have been only 50 publications from canine mycoplasmology field, which means it has to be more investigated. So far, 15 types of mycoplasmas are known that cause disease in dogs. Clinical manifestations of canine mycoplasmosis are variant, ranging from respiratory tract diseases, urogenital tract diseases and sterility, meningoencephalomyelitis and meningoencephalitis, severe anemia, septicemia to arthritis. Diagnosis, isolation and identification of these microbes are hampered by the properties of mycoplasmas, they rarely reveal and do not respond to conventional antimicrobial therapy. Mycoplasmoses are mainly treated with tetracycline antibiotics, since they are resistant to penicillin and cephalosporin antibiotics. Since the presence of canine mycoplasmas in humans has been shown on several occasions, it is considered that the disease with zoonotic potential is still to be investigated.

**KEY WORDS:** mycoplasmas, dog, antimicrobial therapy, resistance, zoonoses

## 8.0. ŽIVOTOPIS

Zovem se Mihael Galović. Rođen sam u Karlovcu, 20. kolovoza 1993. godine. Pohađao sam Osnovnu školu „Ivan Goran Kovačić“ Duga Resa u Dugoj Resi te je završio školske godine 2007./2008. Paralelno sam završio i Osnovnu glazbenu školu u Karlovcu. Nakon osnovne škole, upisao sam Prirodoslovnu školu Karlovac u Karlovcu, gdje sam pohađao smjer veterinarski tehničar od 2008. do 2012. kada sam maturirao. Iste sam godine maturirao i u Srednjoj glazbenoj školi u Karlovcu, smjer teorija glazbe. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisao sam akademske godine 2012./2013. U trajanju studija bio sam demonstrator na Zavodu za fiziku Veterinarskog fakulteta, na kolegiju „Fizika i biofizika“, te demonstrator na Zavodu za patološku fiziologiju Veterinarskog fakulteta na kolegiju „Patološka fiziologija II“. Bio sam aktivan član Veterinarskog zbora i orkestra „Ab ovo“ u kojem sam svirao violinu. Akademske godine 2012./2013. dodijeljena nam je Posebna Rektorova nagrada za nastup povodom ulaska Republike Hrvatske u Europsku Uniju u dvorcu Spielfeld u Austriji. Akademske godine 2016./2017. dodijeljena mi je Rektorova nagrada za znanstveni rad „Primjena propolisa u tretmanu mastitisa kod mliječnih krava“ s kolegicom Karlom Milošević. Počevši od listopada 2015. godine pa sve do sada, volontiram u veterinarskoj praksi za male životinje Pet Plus u Karlovcu, gdje sam 2018. godine obavljao terensko-stručni rad. Područja mog interesa su: kardiologija malih životinja, bakteriologija, anesteziologija i kirurgija.