

# Uzročnici upale vanjskog slušnog kanala u pasa i njihova antimikrobna osjetljivost



Tomislav Sukalić\*, Ivica Pavljak, Ana Končurat i Berislav Sivončik

## Uvod

### Otitis externa i uzroci

Upala vanjskog slušnog kanala ili *otitis externa* (OE) česta je u pasa, a očituje se nekim od kliničkih znakova poput trešnje glavom, boli, crvenila, iscjetka iz uha i neugodnog mirisa. Etiologija OE je multifaktorijalna, a uključuje kombinaciju primarnih i sekundarnih uzroka upale, potpomognutih ponavljajućim i predisponirajućim faktorima (<http://www.dechra-us.com/therapy-areas/companion-animal/dermatology/disease-information/otitis-externa>). Primarni uzroci OE najčešće su: alergije, poremećaji u izlučivanju žlijezda, poremećaji epitelizacije, tumori ili polipi slušnog kanala, strana tijela u slušnom kanalu te autoimune bolesti. Infekcije bakterijama, gljivicama i kvasnicama predstavljaju sekundarne uzroke upale kod OE, a nastaju nakon primarnih uzroka i faktora koji mijenjaju mikrookoliš slušnog kanala. Predisponirajući faktori su suženja slušnog kanala, pretjerana vlažnost, endokrinopatije ili traume. Upala vanjskog slušnog kanala uvijek je rezultat kombinacije gore navedenih čimbenika (Moriello, 2016.).

### Mikroorganizmi kao sekundarni uzročnici OE

Bolesti uha se gotovo uvijek kompliciraju sekundarnom infekcijom, najčešće bakterijama i kvasnicama, a rijetko plijesnima. Kožu uha naseljava mikroflora kože, ali u nešto manjem broju zbog cerumena koji sadrži imunoglobuline i peptide s antimikrobnim učincima. Poremećena ravnoteža između domaćina i komenzalnih mikroorganizama u početku je popraćena blagom upalnom reakcijom, no uz znatno povećanje ukupnog broja bakterija i produkciju bakterijskih toksina, kroz tzv. *quorum sensing* s vremenom može doći do stvaranja biofilma i pojave upalnih stanica u slušnom kanalu (Shaw, 2016.). Tvorba biofilma ima znatan utjecaj na učinkovitost liječenja, jer formiranjem debelog i čvrsto-prijanajućeg sluzavog sloja onemogućava prodor antimikrobnih pripravaka i osigurava zaštićeni rezervoar bakterija. Uz to, biofilmovi mogu pridonijeti razvoju antimikrobne rezistencije, posebno u Gram-negativnih bakterija (Nuttall, 2016.). Najčešći patogeni mikroorganizmi

Dr. sc. Tomislav SUKALIĆ\*, dr. med. vet., (dopisni autor, e-mail: [sukalic.vzk@veinst.hr](mailto:sukalic.vzk@veinst.hr)), mr. sc. Ivica PAVLJAK, dr. med. vet., dr. sc. Ana KONČURAT, dr. med. vet., Hrvatski veterinarski institut – Veterinarski zavod Križevci, Križevci, Hrvatska; Berislav SIVONČIK, dr. med. vet., Veterinarska ambulanta Simba, Varaždin, Hrvatska

koji kompliciraju upalu kod pasa su stafilocoki, streptokoki i *Corynebacterium* spp. od Gram pozitivnih bakterija te bakterije roda *Pseudomonas*, *Proteus*, *Escherichia* i *Enterococcus* od Gram-negativnih bakterija (Hariharan i sur., 2006., Lyskova i sur., 2007.b, Bugden, 2013., Petrov i sur., 2013.). Rezultati do kojih su u istraživanju došli Yoshida i sur. (2002.) pokazuju da je prosječan broj mikroorganizama u uhu pasa s izraženom upalom vanjskog slušnog kanala značajno povećan i oko 40 puta je veći u usporedbi sa zdravim psima ( $\log_{10}$  4,16±0,31 cfu/g u bolesnih, prema  $\log_{10}$  2,55±0,24 cfu/g u zdravih pasa). Bakterije roda *Pseudomonas* i *Proteus* pronađene su samo u uhu bolesnih pasa. Sojevi stafilokoka izdvojeni iz bolesnih pasa imaju znatno veću sposobnost proizvodnje toksina od sojeva iz zdravih pasa (Sasaki i sur., 2005.), a među njima je najčešće izdvojen *Staphylococcus pseudintermedius*. Na početku bolesti uobičajene su miješane infekcije, no s vremenom dolazi do umnažanja jedne od bakterija u monokulturi i to pretežito soja rezistentnog na antimikrobne pripravke. Uz navedene bakterijske uzročnike, kod OE je u visokom postotku zastupljena lipofilna kvasnica *Malassezia pachydermatis* (Oliveira i sur., 2008.) koja kao oportunist naseljava kožu psa. Prijanjanje malasezija na rožnate epitelne stanice posredovano je lipidima (Masuda i sur., 2001.), a *M. pachydermatis* sposobna je hidrolizirati lipide i ugraditi nastale masne kiseline u stanicu, što je ključno za njihov rast, a pridonosi i patogenosti. Važnu ulogu u tome ima fosfolipaza D, koja je kao čimbenik virulencije uključena u upalu vanjskog uha prouzročenu s *M. pachydermatis* (Teramoto i sur., 2015.).

### Antimikrobna osjetljivost uzročnika OE

Lokalnu antimikrobnu terapiju kod upala vanjskog slušnog kanala poželjno je primijeniti kada god je to moguće, jer

rezultira visokom koncentracijom aktivne tvari u slušnim kanalima. Sistemska terapija antimikrobnim pripravcima koristit će u slučajevima kada je kanal teško dostupan ili kod supurativne upale i otitis media (Nuttall, 2016.). Osjetljivost pojedinih bakterijskih izolata iz pasa s OE znatno se razlikuje, a općenito su Gram-pozitivne bakterije osjetljive u puno većem postotku na pojedine antimikrobne pripravke, dok Gram-negativne bakterije uglavnom pokazuju visoku rezistenciju.

Prema objavljenim podacima testiranja, gentamicin je najpotentniji lijek za lokalnu primjenu te djeluje na više od 93% Gram-pozitivnih i Gram-negativnih izolata, uz nešto slabije djelovanje prema *Pseudomonas aeruginosa* (75,9%). Kinoloni su lijek od izbora za sistemska terapiju kod svih izolata (najslabije djelovanje kod *P. aeruginosa* – 74,9%), a amoksicilin s klavulanskom kiselinom kod stafilokoka (91,5%) i streptokoka (93,4%) ([http://www.laboklin.com/pages/html/en/VetInfo/aktuell/otitis\\_externa.htm](http://www.laboklin.com/pages/html/en/VetInfo/aktuell/otitis_externa.htm)). Rezultati koje su objavili Hariharan i sur. (2006.) pokazuju osjetljivost *P. aeruginosa* prema gentamicinu od 85%, ali i 100% osjetljivost prema polymyxinu B. Ostali bakterijski sojevi pokazali su najvišu osjetljivost prema amoksicilinu s klavulanskom kiselinom. Sojevi bakterija *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* i *Escherichia coli* u istraživanju koje su proveli Petrov i sur. (2013.) pokazali su najmanju rezistenciju prema amikacinu. U Hrvatskoj je do sada provedeno više istraživanja antimikrobne osjetljivosti sojeva *Pseudomonas aeruginosa* izdvojenih iz pasa. Šeol i sur. (2002.) testirali su 183 soja *P. aeruginosa* (od čega 106 podrijetlom iz vanjskog slušnog kanala) i ustanovili da su u 96,7% slučajeva osjetljivi na imipenem. U istom istraživanju utvrđena je osjetljivost prema gentamicinu od 83,1%, a promatrajući osjetljivost prema fluorkinolonima, sojevi *P. aeruginosa* pokazali su slabiju osjetljivost prema

enrofloksacinu (71%) nego prema marbofloksacinu i ciprofloksacinu (93,4%). Pintarić i sur. (2017.) proveli su usporedno testiranje osjetljivosti izolata *P. aeruginosa* izdvojenih iz pasa na fluorkinolone, disk difuzijskom i mikrodilucijskom metodom i došli su do zaključka da bi liječenje enrofloksacinom bazirano na rezultatima disk-difuzijske metode moglo biti neuspješno, jer su uočena značajna odstupanja u odnosu na metodu mikrodilucije. Relativno visoku rezistenciju na enrofloksacin (51,9%) i na gentamicin (43,3%) pokazali su sojevi *P. aeruginosa* izdvojeni iz pasa s upalom vanjskog slušnog kanala, koje su pretražili Mekić i sur. (2011.). *Staphylococcus pseudintermedius* kao najčešće izdvajani uzročnik OE u pasa, pokazuje visoku rezistenciju prema penicilinu i tetraciklinima, a meticilin rezistentni *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP, *mecA*+) sojevi pokazuju vrlo

visoku rezistenciju na sve antibiotike, osim na amoksicilin s klavulanskom kiselinom gdje je rezistencija 46,2% (Yoon i sur., 2010.). Uz to, kod izolata *S. pseudintermedius* raste prevalencija MRSP *mecA*+ sojeva i sojeva rezistentnih na fluorkinolone (Yoo i sur., 2009.). Matanović i sur. (2012.) ustanovili su MRSP *mecA*+ u 2/39 izdvojenih sojeva iz slušnog kanala, a istih 39 sojeva pokazalo je najbolju osjetljivost prema enrofloksacinu (97,4%), amoksicilinu s klavulanskom kiselinom i cefaleksinu (94,9%), sulfametoksazolu s trimetoprimom (92,3%) i gentamicinu (87,2%). *Streptococcus canis* pokazuje najvišu rezistenciju prema tetraciklinima i kloramfenikolu (Awji i sur., 2012.), a u pasa s OE dokazan je u 18,8% slučajeva te je pokazao 100% osjetljivost prema penicilinu i ampicilinu (Lyskova i sur., 2007.a).

Uobičajeni antimikotici poput ekonazola, mikonazola, ketokonazola

**Tabela 1.** Diskovi korišteni pri određivanju antimikrobne osjetljivosti

ANTIMIKROBNI LIJEK	OZNAKA	SADRŽAJ DISKA (KONCENTRACIJA)	PROIZVOĐAČ
Gentamicin	GEN	10 µg	OXOID
Neomicin	NEO	30 IU	BIO-RAD
Penicilin	PEN	6 µg (10 IU)	BIO-RAD
Amoksicilin	AMX	25 µg	BIO-RAD
amoksicilin+klavulanska kiselina	AMC	20/10 µg	BIO-RAD
Cefaleksin	CFX	30 µg	BIO-RAD
Ceftiofur	CFT	30 µg	OXOID
Cefovecin	CEV	30 µg	OXOID
Oksitetraciklin	OTC	30 µg	MAST DIAGNOSTICS
Doksiciklin	DOX	30 µg	OXOID
Enrofloksacin	ENF	5 µg	OXOID
Marbofloksacin	MAR	5 µg	BIO-RAD
sulfametoksazol+trimetoprim	SXT	25/75 µg	MAST DIAGNOSTICS
Fluorfenikol	FFC	30 µg	OXOID

i amfotericina B, pokazali su se uspješnim u svim slučajevima infekcije s *Malassezia pachydermatis* ([http://www.laboklin.com/pages/html/en/VetInfo/aktuell/otitis\\_externa.htm](http://www.laboklin.com/pages/html/en/VetInfo/aktuell/otitis_externa.htm)). U EU, SAD i Kanadi provedena su istraživanja u kojima je uočeno sinergističko djelovanje polymyxina B i mikonazola protiv *E. coli* i *P. aeruginosa* te se kombinacija istih preporučuje kod liječenja (Pietschmann i sur., 2013.), dok je kombinacija polymyxina B, mikonazola i prednizolona dobar izbor za prvo tretiranje OE u pasa (Engelen i sur., 2010.).

## Materijali i metode

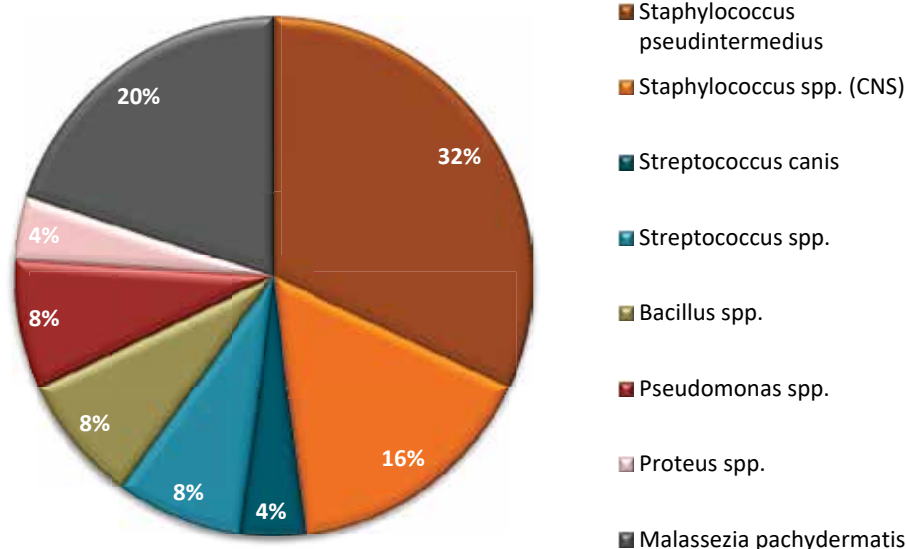
U istraživanju smo pretražili 44 obriska vanjskog slušnog kanala podrijetlom od pasa oba spola, različite dobi i pasmina, koji su pokazivali kliničke znakove OE. Uzorke su sterilnim obriscima s Amies transportnom podlogom prikupljali kolege veterinari u veterinarskim ambulancama, a dostavljeni su u Laboratorij za dijagnostiku Veterinarskog zavoda Križevci u razdoblju 2012. – 2015. godine.

U svrhu izdvajanja patogenih bakterija korišteni su krvni agar s 5% defibrirane ovčje krvi („Merck“) i MacConkey agar („Merck“). Kulture su inkubirane aerobno na 37 °C/24-48 sati. Mikološke pretrage provedene su na Sabouraud maltoza agaru („Merck“) suplement kloramfenikol 50 mg/L uz aerobnu kultivaciju na 30 °C/2-7 dana. Po inkubaciji, izolati su identificirani konvencionalnim mikrobiološkim metodama.

Osjetljivost izdvojenih sojeva prema antimikrobnim lijekovima provedena je disk difuzijskom metodom na Mueller-Hinton agaru, direktnom suspenzijom kolonija uz 0,5 McFarland, prema CLSI standardu (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), a testirani diskovi prikazani su u tabeli broj 1.

## Rezultati

Iz pretraženih obrisaka vanjskog slušnog kanala, u 25 od 44 ili 56,81% slučajeva izdvojili smo patogene bakterije i kvasnice, dok je 43,19% pretraga završilo negativnim rezultatom.



Grafikon 1. Zastupljenost patogenih mikroorganizama prema vrstama

Odnos negativnih i pozitivnih uzoraka te njihova zastupljenost prikazani su u grafikonu 1. Ako promatramo pozitivne uzorke, najzastupljeniji patogeni bili su *Staphylococcus pseudintermedius* (n=8 ili 32%) i *Malassezia pachydermatis* (n=5, 20%), a zatim koagulaza-negativni stafilokoki (16%), streptokoki (12%), *Bacillus* spp. (8%), *Pseudomonas aeruginosa* (8%) te

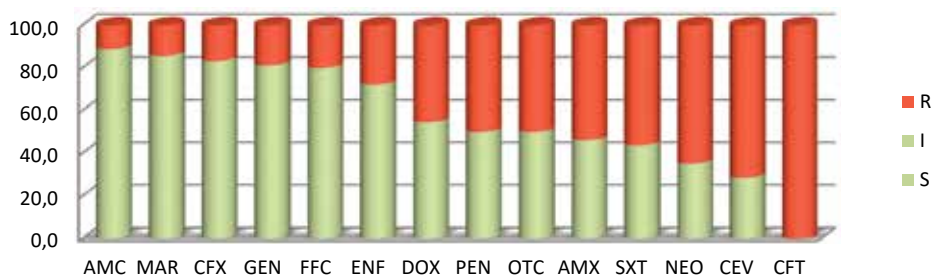
*Proteus mirabilis* (4%). Iz rezultata je vidljivo da među izolatima prevladavaju Gram-pozitivne bakterije, dok Gram-negativne čine svega 12% od pozitivnih uzoraka.

Osjetljivost pojedinih bakterijskih vrsta prema testiranim antibioticima prikazana je u tabeli 2. Najčešće izdvojene bakterije roda *Staphylococcus*, niti u jed-

**Tabela 2.** Izdvojeni patogeni uzročnici i osjetljivost prema antimikrobnim pripravcima

OBRISCI VANJSKOG SLUŠNOG KANALA Broj uzoraka = 44	PATOGENI UZROČNICI																									
	GRAM POZITIVNE BAKTERIJE										GRAM NEGATIVNE BAKTERIJE						KVASNICE									
	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	<i>Staphylococcus</i> spp. (CNS)	<i>Streptococcus canis</i>	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Malassezia pachydermatis</i>																		
Ukupno pozitivnih = 25	n = 8	n = 4	n = 1	n = 2	n = 2	n = 2	n = 1	n = 5	osjetljivost																	
TESTIRANI ANTIMIKROBNI LIJEKOVI	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R					
GEN	2	3	2	3	1	1				1	1					1		1								
NEO		4	3	1	1	1				1		2			2			2								
PEN	2	2	3				1	1			1				2											
AMX	4		4				3	1			1															
AMC	8			2	1		1			2		2				1			1							
CFX	6	1	1	1	1		1					1														
CFT			1									1						1								
CEV	1			1										2		2			1							
OTC	1	3	2	1	1	1					1					1			1							
DOX	4		2	2		1			1							1										
ENF	4	3	1	3		1	1					1	2			1			1		1					
MAR	1	2		1	1	1		1																		
SXT	1	3	2	2		2		1				1		2		1					1					
FFC	1									1		2				1										

n = broj izolata S = osjetljiv I = umjereno osjetljiv R = neosjetljiv  
 Brojevi u rubrikama tablice pokazuju koliko je puta određeni antimikrobni pripravak testiran.  
 Oznake antimikrobnih pripravaka prema tabeli 1.



**Grafikon 2.** Rezistencija izolata u istraživanju prema antimikrobnim pripravcima

nom slučaju nisu pokazale rezistenciju na amoksicilin s klavulanskom kiselinom (osjetljivost 100%). Uz to visoku osjetljivost stafilokoki su pokazali prema cefovecinu i cefaleksinu (90%), fluorokinolonima (88,88%) i gentamicinu (81,81%). Najveću rezistenciju pokazali su prema amoksicilinu (63,63%) i penicilinu (50%) te neomicinu i sulfametoksazolu s trimetoprimom (40%). Izolati roda *Streptococcus* u 100% slučajeva bili su osjetljivi na amoksicilin s klavulanskom kiselinom i penicilin, a rezistentni na neomicin i tetracikline. *Bacillus* spp., pokazao je osjetljivost na amoksicilin s klavulanskom kiselinom, enrofloksacin i fluorfenikol, a rezistenciju na neomicin, penicilin, cefovecin i sulfametoksazol s trimetoprimom. U oba slučaja uz *Bacillus* je dokazana i *Malassezia pachydermatis*. Izdvojene Gram-negativne bakterije *Pseudomonas aeruginosa* i *Proteus mirabilis* pokazale su osjetljivost jedino prema gentamicinu i rezistenciju na sve ostale testirane antimikrobne pripravke. Fluorfenikol je bio učinkovit prema Gram-pozitivnim izolatima, dok je u slučaju testiranja *Pseudomonas aeruginosa* pokazao rezistenciju.

Testirane antimikrobne pripravke moguće je svrstati prema njihovoj učinkovitosti, kako je prikazano u grafikonu 2, gdje je crvenom bojom prikazana rezistencija bakterijskih izolata u istraživanju prema pojedinim lijekovima. Oznake antimikrobnih lijekova objašnjene su u tabeli 1.

## Rasprava

Od 44 obriska vanjskog slušnog kanala pasa pretraženih u ovom istraživanju, iz 25 su izdvojene patogene bakterije i kvasnice, što predstavlja 56,81% pozitivnih uzoraka. S obzirom da su uzorci podrijetlom od pasa s izraženom kliničkom slikom OE, relativno visok postotak negativnih uzoraka upućuje na moguće uzorkovanje po već započetoj ili provedenoj antimikrobnoj terapiji. Čest je slučaj da se obrisci za laboratorijske pretrage uzimaju tek po neuspješnom liječenju, a nerijetko i nakon primjene više različitih antimikrobnih pripravaka. Promatrajući izdvojene uzročnike, vidljiva je visoka podudarnost naših rezultata s rezultatima dosadašnjih istraživanja. Bakterije roda *Staphylococcus* pronašli smo u ukupno 48% slučajeva, a slijedi kvasnica *Malassezia pachydermatis* sa zastupljenošću od 20% među pozitivnim uzorcima, kako je prikazano u grafikonu 1. Iste patogene kao najčešće navode Lyskova i sur. (2007.b) te Oliveira i sur. (2008.). U našem istraživanju izdvojeni izolati roda *Streptococcus* te *Pseudomonas aeruginosa* i *Proteus mirabilis* pripadaju najčešće izdvajanim mikroorganizmima kod OE (Bugden, 2013.). No, niti u jednom slučaju nismo izdvojili *Corynebacterium* spp., *Enterococcus* spp. ili bakteriju *Escherichia coli*, koje kao patogene navodi Shaw (2016.). *Bacillus* spp. autori ne spominju kao uzročnika OE, no s obzirom na relativno

visoku rezistenciju sojeva i izdvajanje uz *M. pachydermatis*, slučajeve smo smatrali koinfekcijom. U tabeli 2 prikazana osjetljivost izolata na testirane antimikrobne pripravke pokazuje da amoksicilin s klavulanskom kiselinom djeluje na sve Gram-pozitivne bakterije. Gentamicin je jedini pokazao djelovanje prema Gram-negativnim bakterijama, a visoku osjetljivost na gentamicin pokazali su i izolati *Pseudomonas aeruginosa* koje su istražili Šeol i sur. (2002.). Dobiveni rezultati podudaraju se s prikazanim u istraživanju koje su proveli Hariharan i sur. (2006.), dok osjetljivost na gentamicin u većine izolata navode i Bugden (2013.) te Petrov i sur. (2013.). Visoka osjetljivost sojeva *Staphylococcus pseudintermedius* na amoksicilin s klavulanskom kiselinom (100%) koju smo ustvrdili, podudara se s rezultatima koje navode i Yoon i sur. (2010.). Matanović i sur. (2012.) uočili su osjetljivost *S. pseudintermedius* od 94,9% prema amoksicilinu s klavulanskom kiselinom i cefaleksinu te još višu prema enrofloksacinu (97,4%), što je u suglasju s našim rezultatima. No, razlike su vidljive u višoj rezistenciji *S. pseudintermedius* prema sulfametoksazolu s trimetoprimom u našem istraživanju. Izolati stafilokoka i streptokoka u istraživanju koje smo proveli pokazali su nisku rezistenciju još i na cefaleksin te fluorokinolone enrofloksacin i marbofloksacin. Potpunu osjetljivost ili nisku rezistenciju na fluorokinolone pokazala je i većina izolata u istraživanju kojeg su proveli Awji i sur. (2012.), dok nasuprot tome Yoo i sur. (2009.) upozoravaju na sve višu rezistenciju prema fluorokinolonima među sojevima *Staphylococcus pseudintermedius*. Ako među fluorokinolonima promatramo samo enrofloksacin, iz istraživanja koje su proveli Mekić i sur. (2011.) vidljiva je i relativno visoka rezistencija kod sojeva *P. aeruginosa*, a Pintarić i sur. (2017.) sugeriraju nepouzdanost disk-difuzijske metode pri testiranju osjetljivosti *P. aeruginosa* na enrofloksacin i moguće neuspješno liječenje.

Nameće se zaključak da su bakterije roda *Staphylococcus* najčešći uzročnici OE u pasa te su kao i ostale Gram-pozitivne bakterije najosjetljivije prema amoksicilinu s klavulanskom kiselinom, a nisku rezistenciju pokazuju i prema cefaleksinu, fluorokinolonima i gentamicinu. Nasuprot dobroj osjetljivosti Gram-pozitivnih bakterija, problem postoji kod Gram-negativnih bakterija koje se povezuju s kroničnim slučajevima OE i pokazuju vrlo visoku rezistenciju prema antimikrobnim lijekovima. Povratne informacije po provedenom liječenju kod slučajeva OE povezanih s *Malassezia pachydermatis*, upućuju na potrebu provedbe sistemske i lokalne terapije antimikotocima u trajanju od minimalno 21 dan. No, nedostatak registriranih sistemskih antimikotika za pse i troškovi liječenja, razlog su što se najčešće provodi samo lokalna terapija pripravcima koji sadrže kombinaciju antimikotika, antibiotika širokog spektra i kortikosteroida.

## Sažetak

Upala vanjskog slušnog kanala ili *otitis externa* (OE) česta je pojava u pasa. Bolest je multifaktorijalne etiologije, a primarni uzroci najčešće su: alergije, poremećaji u izlučivanju žlijezda, poremećaji epitelizacije, tumori ili polipi slušnog kanala, strana tijela u slušnom kanalu te autoimune bolesti. Infekcije bakterijama i kvasnicama predstavljaju sekundarne uzročnike upale kod OE, koji nastupaju po djelovanju primarnih uzroka i faktora koji mijenjaju mikrookoliš slušnog kanala. Predisponirajući faktori mogu biti suženja slušnog kanala, pretjerana vlažnost, endokrinopatije ili traume, a upala će uvijek biti rezultat kombinacije gore navedenih čimbenika. Najčešći patogeni mikroorganizmi koji kompliciraju upalu u pasa su stafilokoki i streptokoki od Gram-pozitivnih bakterija te bakterije roda *Pseudomonas*, *Proteus* i *Escherichia* od Gram-negativnih bakterija. Uz navedene bakterijske uzročnike u visokom postotku je zastupljena kvasnica *Malassezia*

*pachydermatis* koja kao oportunist naseljava kožu psa. U istraživanju smo pretražili 44 obriska vanjskog slušnog kanala pasa s izraženom kliničkom slikom upale. Iz navedenih obrisaka izdvojili smo patogene bakterije i kvasnice u 25 slučajeva ili 56,81%. Najzastupljeniji patogeni bili su *Staphylococcus pseudintermedius* (n=8 ili 32%) i *Malassezia pachydermatis* (n=5, 20%), a zatim koagulaza-negativni stafilokoki (16%), streptokoki (12%), *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus* spp. (8%) te *Proteus mirabilis* (4%). Osjetljivost izolata prema antimikrobnim lijekovima određivali smo disk difuzijskom metodom, a testirano je ukupno 14 komercijalno dostupnih antimikrobnih pripravaka. Najbolju osjetljivost izolati su pokazali prema amoksicilinu s klavulanskom kiselinom te prema gentamicinu, enrofloksacinu i cefaleksinu, a najveća rezistencija zabilježena je prema ceftiofuru, neomicinu i sulfametoksazolu s trimetoprimom. Amoksicilin s klavulanskom kiselinom pokazao je 100% učinkovitost prema *Staphylococcus pseudintermedius*, ali i potpunu rezistenciju kod izdvojenih Gram-negativnih bakterija. U slučajevima infekcije s Gram-negativnim bakterijama *Pseudomonas aeruginosa* i *Proteus mirabilis*, jedino su na gentamicin pokazale punu osjetljivost, dok su na ostale testirane pripravke pokazali potpunu rezistenciju. Visoki postotak bakteriološki negativnih rezultata (43,18%) najvjerojatnije je posljedica uzimanja uzoraka nakon neučinkovite terapije.

**Ključne riječi:** *pas, otitis externa, patogene bakterije, antimikrobna osjetljivost*

## Literatura

1. AWJI, E. G., D. DAMTE, S.-J. LEE, J.-S. LEE, Y.-H. KIM and S.-C. PARK (2012): The in vitro activity of 15 antimicrobial agents against bacterial isolates from dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 74, 1091-1094. doi: 10.1292/jvms.12-0043.
2. BUGDEN, D. L. (2013): Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from dogs with otitis externa in Australia. *Aust. Vet. J.* 91, 43-46.
3. ENGELEN, M., M. DE BOCK, J. HARE and L. GOOSSENS (2010): Effectiveness of an otic product containing miconazole, polymyxin B and prednisolone in the treatment of canine otitis externa: multi-site field trial in the US and Canada. *Intern. J. Appl. Res. Vet. Med.* 8, 21-30.
4. HARIHARAN, H., M. COLES, D. POOLE, L. LUND and R. PAGE (2006): Update on antimicrobial susceptibilities of bacterial isolates from canine and feline otitis externa. *Can. Vet. J.* 47, 253-255. <http://www.dechra-us.com/therapy-areas/companion-animal/dermatology/disease-information/otitis-externa>
5. [http://www.laboklin.com/pages/html/en/VetInfo/aktuell/otitis\\_externa.htm](http://www.laboklin.com/pages/html/en/VetInfo/aktuell/otitis_externa.htm)
6. LYSKOVÁ, P., M. VYDRŽALOVÁ, D. KRÁLOVCOVÁ and J. MAZUROVÁ (2007a): Prevalence and characteristics of *Streptococcus canis* strains isolated from dogs and cats. *Acta Vet. Brno* 76, 619-625. doi: 10.2754/avb200776040619
7. LYSKOVÁ, P., M. VYDRŽALOVÁ and J. MAZUROVÁ (2007b): Identification and antimicrobial susceptibility of bacteria and yeasts isolated from healthy dogs and dogs with otitis externa. *J. Vet. Med. A.* 54, 559-563.
8. MASUDA, A., T. SUKEGAWA, H. TANI, T. MIYAMOTO, K. SASAI, Y. MORIKAWA and E. BABA (2001): Attachment of *Malassezia pachydermatis* to the ear dermal cells in canine otitis externa. *J. Vet. Med. Sci.* 63, 667-669.
9. MATANOVIĆ, K., S. MEKIĆ and B. ŠEOL (2012): Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs and cats in Croatia during a six-month period. *Vet. arhiv* 82, 505-517.
10. MEKIĆ, S., K. MATANOVIĆ and B. ŠEOL (2011): Antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from dogs with otitis externa. *Vet. Rec.* 169, 125; DOI: 10.1136/vr.d2393
11. MORIELLO, K. A. (2016): Overview of otitis externa. In: *MSD Veterinary Manual*. <http://www.msdvetmanual.com/eye-and-ear/otitis-externa>
12. NUTTALL, T. (2016): Successful management of otitis externa. *In Practice* 38, 17-21.
13. OLIVEIRA, L. C., C. A. L. LEITE, R. S. N. BRILHANTE and C. B. M. CARVALHO (2008): Comparative study of the microbial profile from bilateral canine otitis externa. *Can. Vet. J.* 49, 785-788.
14. PETROV, V. G. MIHAYLOV, I. TSACHEV, G. ZHELEV, P. MARUTSOV and K. KOEV (2013): Otitis externa in dogs: microbiology and antimicrobial susceptibility. *Rev. Méd. Vét.* 164, 18-22.
15. PIETSCHMANN, S., M. MEYER, M. VOGET and M. CIESLICKI (2013): The joint in vitro action of polymyxin B and miconazole against pathogens associated with canine otitis externa from three European countries. *Vet. Dermatol.* 24, 439-447. doi: 10.1111/vde.12037
16. PINTARIĆ, S., K. MATANOVIĆ and B. ŠEOL MARTINEC (2017): Fluoroquinolone susceptibility in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from dogs - comparing disk diffusion and microdilution methods. *Vet. arhiv* 87, 291-300.
17. SASAKI, A., A. SHIMIZU, J. KAWANO, Y., WAKITA, T. HAYASHI and S. OOTSUKI (2005): Characteristics of *Staphylococcus intermedium* isolates from diseased and healthy dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 67, 103-106.
18. SHAW, S. (2016): Pathogens in otitis externa: diagnostic techniques to identify secondary causes of ear disease. *In Practice* 38, 12-16.



20. ŠEOL, B., T. NAGLIĆ, J. MADIĆ and M. BEDEKOVIĆ (2002): *In vitro* antimicrobial susceptibility of 183 *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from dogs to selected antipseudomonal agents. J. Vet. Med. 49, 188-192.
21. TERAMOTO, H., Y. KUMEDA, K. YOKOIGAWA, K. HOSOMI, S. KOZAKI, M. MUKAMOTO and T. KOHDA (2015): Genotyping and characterisation of the secretory lipolytic enzymes of *Malassezia pachydermatis* isolates collected from dogs. Vet. Rec. Open 2015; 2:e000124. doi:10.1136/vetreco-2015-000124
22. YOO, J.-H., J. W. YOON, S.-Y. LEE and H.-M. PARK (2009): High prevalence of fluoroquinolone- and methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from canine pyoderma and otitis externa in veterinary teaching hospital. J. Microbiol. Biotechnol. 20, 798-802.
23. YOON, J. W., K.-J. LEE, S.-Y. LEE, M.-J. CHAE, J.-K. PARK, J.-H. YOO and H.-M. PARK (2010): Antibiotic resistance profiles of *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from canine patients in Korea. J. Microbiol. Biotechnol. 20, 1764-1768.
24. YOSHIDA, N., F. NAITO and T. FUKATA (2002): Studies of certain factors affecting the microenvironment and microflora of the external ear of the dog in health and disease. J. Vet. Med. Sci. 64, 1145-1147.

## Otitis externa in dogs – microbial pathogens and antimicrobial susceptibility

Tomislav SUKALIĆ, DVM, PhD, Ivica PAVLJAK, DVM, MSc, Ana KONČURAT, DVM, PhD, Croatian Veterinary Institute Križevci, Križevci, Croatia; Berislav SIVONČIK, DVM, Veterinary Practice Simba, Varaždin, Croatia

Inflammation of the external ear canal or otitis externa (OE) is common in dogs. Disease is of a multifactorial aetiology, and the most common primary causes are allergies, glandular disorders, epithelial disorders, tumours or polyps of the auditory canal, foreign bodies in the auditory canal and autoimmune diseases. Bacterial and yeast infections are secondary causes of inflammation in the OE, which occur due to the action of primary causes and factors that alter the microenvironment of the auditory canal. Predisposing factors may be obstruction of the auditory canal, excessive humidity, endocrinopathies or trauma. Inflammation will always be the result of a combination of the above-mentioned factors. The most common pathogens that complicate inflammation in dogs are staphylococci and streptococci among the Gram positive bacteria, and the genera *Pseudomonas*, *Proteus* and *Escherichia* among the Gram negative bacteria. In addition to the above-mentioned bacterial pathogens, *Malassezia pachydermatis* is frequent, and settles on the skin of the dog as an opportunist. In this study, we examined 44 swabs of the external ear canal of dogs with a pronounced clinical picture of inflammation. Of these samples, pathogenic bacteria and yeasts were identified in 25 cases or 56.81%. The most common pathogens

were *Staphylococcus pseudintermedius* (n=8 or 32%) and *Malassezia pachydermatis* (n=5, 20%), followed by coagulase-negative staphylococci (16%), streptococci (12%), *Pseudomonas aeruginosa* (8%), *Bacillus* spp. (8%) and *Proteus mirabilis* (4%). The susceptibility of isolates to antimicrobial drugs was determined by the disc diffusion method, and 14 commercially available antimicrobial drugs were tested. Bacterial isolates showed the highest susceptibility to amoxicillin with clavulanic acid (88.9%), gentamicin, enrofloxacin and cephalexin. The highest resistance of isolates was observed against ceftiofur (100%), cefovecin, neomycin and sulfamethoxazole with trimethoprim. *Staphylococcus pseudintermedius* strains showed 100% susceptibility to amoxicillin with clavulanic acid, unlike isolates of Gram negative bacteria which showed complete resistance to amoxicillin with clavulanic acid. In cases of infection with *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis*, isolates showed full sensitivity only to gentamicin and complete resistance to other tested antimicrobials. The high percentage of negative results (43.18%) is likely the result of sampling after commenced or completed antimicrobial therapy.

**Key words:** dog, otitis externa, pathogens, antimicrobial susceptibility