

Mikoplazme pasa

Canine mycoplasmas



Galović, M., B. Šeol Martinec, S. Pintarić *

Sažetak

Mikoplazme su najjednostavniji i najmanji prokariotski organizmi koji se mogu samostalno razmnožavati. Izdvojene su iz svih vrsta domaćih životinja, mnogih vrsta divljih životinja, ptica, ljudi, insekata, biljaka i gmazova. Raširene su po cijelom svijetu i većinom obitavaju u organizmu prijemljivih domaćina kao komenzali na sluznicama, ponajprije gornjega dišnog sustava te probavnog i genitalnog trakta, na površinama zglobova i u mliječnoj žlijezdi goveda. Dosad je iz pasa izdvojeno 15 vrsta mikoplazma. Klinička očitovanja mikoplazmoza pasa mogu biti raznolika, počevši od respiratornih bolesti, bolesti urogenitalnog trakta i sterilnosti, meningoencefalomijelitisa i meningoencefalitisa, teških anemija, septikemija do artritisa. Izdvajanje i identifikacija ovih mikroba teška je zbog specifičnih fizioloških svojstava mikoplazma. Osim toga mikoplazme ne reagiraju na uobičajenu terapiju antimikrobnim lijekovima. Zbog nedostatka stanične stijenke mikoplazme su urođeno rezistentne na penicilinske i cefalosporinske antibiotike, a najčešće se liječe tetraciklinima, makrolidima i fluorokinolonima. Zoonotski potencijal mikoplazma pasa tek treba istražiti jer su u nekoliko navrata iz ljudi izdvojene mikoplazme kojima je uobičajeni domaćin pas.

Ključne riječi: mikoplazme, pas, antimikrobna terapija, rezistencija, zoonoze

Abstract

Mycoplasmas are the smallest procaryotic cells capable of self-replication, found in a variety of avian, human, insect, mammalian, plant and reptilian hosts. The mollicutes occur worldwide and some species are found as commensals on the mucous membranes of the upper respiratory, intestinal and genital tracts, on articular surfaces and in bovine mammary glands. To date, 15 species of mycoplasma have been isolated from dogs. The clinical manifestations of canine mycoplasmosis are various, ranging from respiratory tract diseases, urogenital tract diseases and sterility, meningoencephalomyelitis and meningoencephalitis, severe anaemia, and septicaemia, to arthritis. Isolation and identification of these microbes are hampered due to the specific properties of the mycoplasmas. In addition, mycoplasmas do not respond to conventional antimicrobial therapy. Mycoplasmas lack a cell wall, which makes them resistant to penicillin and cephalosporin antibiotics. Therefore, tetracycline, macrolide and fluoroquinolone antibiotics are the drugs of choice. The zoonotic potential is yet to be investigated since there have been several reports of human infection by various mycoplasma species typically found in dogs.

Key words: mycoplasmas, dog, antimicrobial therapy, resistance, zoonoses

Mihael GALOVIĆ, dr. med. vet., Veterinarska praksa za male životinje Pet Plus, Karlovac; dr. sc. Branka ŠEOL MARTINEC, dr. med. vet., redovita profesorica u trajnom zvanju; doc. dr. sc. Selma PINTARIĆ, dr. med. vet., docentica, Zavod za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. *Dopisni autor: selma.pintaric@vef.hr

Uvod

Mikoplazme su najmanji i najjednostavniji prokarioti koji se mogu samostalno razmnožavati (Markey i sur., 2013.). Naziv *mikoplazme* odnosi se prije svega na vrste roda *Mycoplasma*, no upotrebljava se i za sve ostale vrste razreda Mollicutes (Naglić i sur., 2005.). 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 riketije, a odnedavno su uvrštene u porodicu Mycoplasmataceae (tablica 1) (Markey i sur., 2013.). Budući da se novoklasificirani rodovi prilično razlikuju od dosadašnjih mikoplazma, opisuju se uglavnom zasebno (Naglić i sur., 2005.). Specifičnost ovih mikoplazma jest da parazitiraju u crvenim krvnim stanicama pa su poznate kao hemotropne mikoplazme i katkad se nazivaju hemoplazmama (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 prijemljivih domaćina kao komenzali na sluznicama ponajprije gornjega dišnog sustava te probavnog i genitalnog trakta, na površinama zglobova i u mliječnoj žlijezdi goveda. Pojedine patogene vrste imaju afinitet za mezenhimne stanice u zglobovima i seroznim šupljinama. Infekcije uzrokovane mikoplazmama uglavnom su kronične i blagog intenziteta, a najčešće zahvaćaju respiratorni trakt i pluća (Markey i sur., 2013.). Ove se bakterije najčešće šire aerosolom, spolnim odnosom i vertikalno s majke na potomstvo, a važne ptičje mikoplazme prenose se jajima. Hemotropne mikoplazme prenose se sa

životinje na životinju ugrizom zaraženih artropoda (Markey i sur., 2013.). Prema vrsti inficiranih domaćina mikoplazme obično svrstavamo u mikoplazme preživača, svinja, peradi, pasa, mačaka i glodavaca (Naglić i sur., 2005.).

Mikoplazme nemaju mogućnost stvaranja čvrste stanične stijenke i okružene su staničnom membranom sastavljenom od proteina, glikoproteina, glikolipida i fosfolipida. Zbog odsutnosti čvrste stanične stijenke otporne su na antimikrobne lijekove čije se djelovanje temelji na inhibiciji sinteze stanične stijenke (penicilini i cefalosporini). Osim toga zbog nedostatka stanične stijenke mikoplazme su promjenjiva oblika, odnosno stanice mikoplazma su pleomorfne. Mogu biti kuglasta, nitasta, zavojita ili prstenasta oblika (Markey i sur., 2013.).

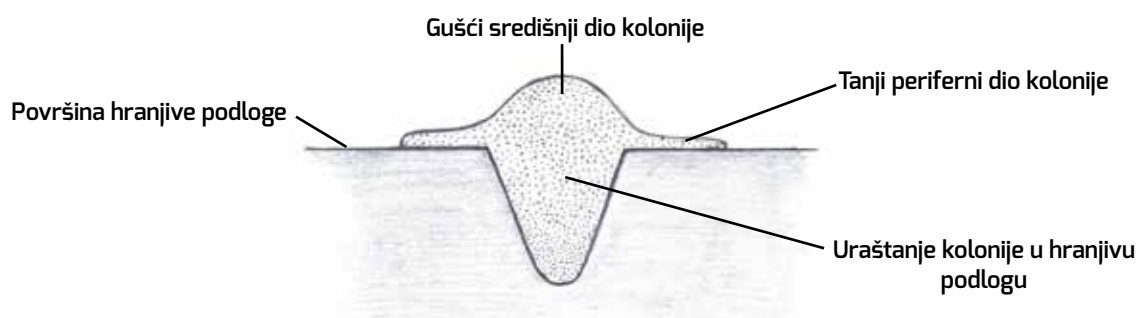
Kao mikrobi s malim genomom (oko 800 gena), mikoplazme su ograničenih fizioloških aktivnosti te im, osim gena za sintezu stanične stijenke, nedostaje i velik broj gena koji kodiraju pojedine metaboličke procese. Stoga ih je iznimno teško uzgojiti na umjetnim hranjivim podlogama (Naglić i sur., 2005.).

Mikoplazme izdvojene iz pasa

Prva pojava mikoplazma u pasa zabilježena je 1934. godine (Shoetensack, 1934.). Otada je iz pasa izdvojeno 15 vrsta mikoplazma: *Acholeplasma laidlawii*, *Mycoplasma arginini*, *Mycoplasma bovigenitalium*, *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 ni jednoj dosad poznatoj vrsti mikoplazme, ali nisu još u potpunosti opisane: *Mycoplasma* sp. HRC689 i VJC358 (Chalker, 2005.). S obzirom na to da je velik broj navedenih mikoplazma izdvojen iz različitih vrsta životinja, a ne samo pasa, termin mikoplazme pasa relativan je.

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 |



Slika 1. Presjek kolonije koji prikazuje rast mikoplazme na površini i ispod površine hranjive podloge.

Vrste i broj mikoplazma koje uzrokuju ili mogu uzrokovati infekcije u pasa i mačaka nisu u potpunosti razjašnjene zbog poteškoća pri identifikaciji pojedinih vrsta. Smatra se da će se te vrste mikoplazma pasa i mačaka tek otkriti pomoću molekularnih metoda budućnosti (Sykes, 2014.). Zbog poteškoća prilikom identifikacije vrsta mikoplazma u pasa, većina se istraživanja temeljila samo na dokazivanju prisutnosti ili odsutnosti mikoplazma u različitim kliničkim uzorcima, dok se o specifičnim infekcijama u pasa uzrokovanim mikoplazmama zna vrlo malo (Chalker, 2005.). Spomenute infekcije najčešće su povezane s keratokonjunktivitisom i/ili respiratornim bolestima gornjega dišnog sustava u mačaka, bolestima reproduktivnog sustava i urinarnog trakta u pasa, bolestima donjega dišnog sustava, infekcijama mekih tkiva i meningoencefalitisom u pasa i mačaka. Mikoplazme se pojavljuju kao sekundarni uzročnici postojeće bakterijske ili virusne infekcije ili u naizgled zdravih nositelja koji u boluju od neoplastične bolesti ili su na terapiji imunosupresivnim lijekovima (Sykes, 2014.).

Značenje svih mikoplazma izdvojenih iz pasa ostaje do danas nerazjašnjeno, ali poznato je da su pojedine vrste povezane s 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 na ostale mikoplazme, a prijanaju uz eritrocite nekih vrsta kralježnjaka gdje se umnažaju. Prenose se s jedne na drugu životinju hematofagnim artropodima (krpelji, uši, komarci i buhe) (Markey i sur., 2013.).

Izdvajanje, uzgoj i identifikacija mikoplazma

Mikoplazme su iznimno osjetljive na vanjske utjecaje, pa uzorke namijenjene njihovu izdvajanju treba što prije ohladiti na temperaturu hladnjaka i dostaviti u laboratorij najkasnije 24 – 48 sati nakon uzi-

manja. Uzorci se uzimaju od životinja u početnom stadiju bolesti zbog čestih sekundarnih infekcija drugim mikrobima, koji otežavaju izdvajanje mikoplazma. Uzorci mogu biti strugotine ili obrisci sluznica, eksudat iz traheje, aspirati, plućno tkivo na granici promijenjenog 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 da bi spriječili rast bakterija kojima je materijal za pretragu na mikoplazme redovito onečišćen, podlogama se dodaje talijev acetat i antibiotici. 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 (Naglić i sur., 2005.). Uzgoj mikoplazma na umjetnoj hranjivoj podlozi zasad je najčešća metoda dokazivanja prisutnosti mikoplazma u uzorcima dobivenim od pasa (Chalker, 2005.).

Većina mikoplazma pasa raste brzo (1 – 2 dana) na komercijalno dostupnim čvrstim umjetnim podlogama za njihovo izdvajanje, u aerobnim uvjetima pri temperaturi od 37 °C. Neke mogu rasti anaerobno, a neke čak i na običnom krvnom agaru (Chalker, 2005.). Na čvrstim hranjivim podlogama nakon višednevne inkubacije (3 – 7 dana) izrastu malene kolonije promjera 1 mm, osebujna oblika, gušćeg središnjeg dijela koji urasta u hranjivu podlogu i tanki, prozirni periferni dio (slika 1) (Naglić i sur., 2005.). Kolonije mikoplazma, posebice one stare nekoliko dana, vidljive su golim okom, ali je potrebna mikroskopska pretraga kako bi se potvrdio tipičan izgled kolonija nalik na jaje pečeno *na oko* (slika 2). Izgled kolonija malo je važan za razlikovanje mikoplazma pasa i nije dovoljan za identifikaciju vrste (Chalker, 2005.).

U svrhu identifikacije do razine roda istražuje se osjetljivost na digitonin, provodi se modificirani test tvorbe ureaze te određuje veličina kolonija. Precizna identifikacija do vrste iznimno je zamršen i dugotrajan postupak i zahtijeva primjenu sofisticiranih tehnika kao što su: metoda fluorescirajućih protutijela, fluorescencija (direktna i indirektna), ELISA, gel-difuzijski test, metode temeljene 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 mikoplazma pasa, veterinari rijetko zahtijevaju njihovo izdvajanje u kliničkim uzorcima dobivenim od pasa te ih samo mali broj laboratorija rutinski uzgaja. Razlog su tomu kompleksne i skupe podloge potrebne za njihov uzgoj.

U novije se vrijeme u laboratorijima sve češće primjenjuje PCR tehnologija što će poboljšati identifikaciju mikoplazma te potaknuti veterinare na češće dijagnosticanje mikoplazmoza (Chalker, 2005.).

Infekcije i bolesti u pasa uzrokovane mikoplazmama

Klinička slika mikoplazmoze u pasa ovisi o organskom sustavu koji je zahvaćen te o drugim bolestima od kojih životinja istodobno boluje (Sykes, 2014.). Mikoplazmoze pasa mogu uzrokovati različite vrste roda *Mycoplasma*. Najčešće mikoplazme izdvojene iz pasa jesu *M. cynos* i *M. canis* (May, 2009.). Kao i ostale mikoplazme, tako i mikoplazme pasa i mačaka imaju sposobnost prianjanja na stanice domaćina, ali nije u potpunosti poznato imaju li adhezine vrsno specifične za svoje domaćine (Sykes, 2014.).



Slika 2. Kolonije vrste *Mycoplasma bovis* (iz zbirke Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu).

Infekcije i bolesti respiratornog sustava

Neki su znanstvenici smatrali da su mikoplazme dio fiziološke mikroflore gornjega respiratornog trakta u pasa, ali postoje istraživanja koja su dokazala njihovu prisutnost i u donjem respiratornom traktu zdravih pasa (Hong, 2012.). Samo 20 – 25 % zdravih pasa nosi mikoplazme u traheji ili plućima (Chalker, 2005.). Kod pasa mlađih od godinu dana koji boluju od plućnih bolesti u 78 % slučajeva izdvojene su mikoplazme (Randolph i sur., 1993.). Osim mikoplazma, iz pluća pasa oboljelih od pneumonije izdvojene su i ureaplazme (Ball i sur., 1982.). Rijedak je slučaj da se iz pleuralnog izljeva pasa i mačaka mikoplazme izoliraju u čistoj kulturi (Sykes, 2014.). Često se 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 (Vieson i sur., 2012.). No unatoč istraživanjima u kojima su mikoplazme izolirane u čistoj kulturi iz uzoraka uzetih iz respiratornog sustava pasa, nije u potpunosti razjašnjeno jesu li mikoplazme primarni ili sekundarni uzročnici infekcije u pasa oboljelih od pneumonije (Chalker, 2005.).

Iz pasa oboljelih od bolesti respiratornog sustava izolirane su sljedeće mikoplazme: *M. bovinegenitalium*, *M. canis*, *M. cynos*, *M. edwardii*, *M. feliminutum*, *M. gaetae* i *M. spumans* (Hong, 2012.). Infekcije respiratornog trakta uzrokovane mikoplazmama mogu rezultirati iscjetkom iz nosa, kihanjem, s konjunktivitisom ili bez njega. Nakon kraćeg vremena pojavljuje se intermitentna vrućica, tahipneja i kašalj. Auskultacijski se čuju pooštrjeni dišni šumovi nad parenhimom pluća. Pojedini pacijenti gube apetit, letargični su i zato tome gube na tjelesnoj masi (Sykes, 2014.). Mikoplazme koje uzrokuju pneumonije imaju sposobnost prianjanja na trepetljikavi epitel dišnih puteva te inaktiviraju mukocilijarni pokrov što rezultira gubitkom cilija/trepetljika (Markey i sur., 2013.).

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

Zarazni kašalj pasa (engl. *canine infectious respiratory disease*, CIRI) kompleksna je zarazna bolest, a uzrokuje ju više različitih mikroba koji sinergijskim djelovanjem mogu pogoršati simptome (Appel i sur., 1987.). Većina prijašnjih istraživanja nije uključivala mikoplazme kao potencijalne uzročnike zaraznog kašlja pasa. No nekoliko vrsta mikoplazama izdvojeno je iz bolesnih pasa, a poslije je dokazano da je vrsta *M. cynos* povezana s CIRI-om (Chalker i sur., 2004.).

Mlađi psi podložniji su infekciji vrstom *M. cynos* od starijih pasa (Chalker i sur., 2004.). U eksperimentalnim uvjetima učinjena je endobronhijalna infekcija vrstom *M. cynos*, koja se očitovala pneumonijom, destrukcijom i gubitkom trepetljika epitela te infiltracijom alveola neutrofilima i makrofagima (Chalker, 2005.). Također je dokazano da se vrsta *M. cynos* zadržava u plućima nositelja do tri tjedna nakon infekcije (Hong i sur., 2012.).

Gotovo su svi psi i mačke nositelji mikoplazma 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. Ulogu ostalih mikoplazma u razvoju bolesti dišnog sustava tek treba istražiti (Chalker, 2005.).

Infekcije i bolesti mokraćno-spolnog sustava

Čak 30 – 50 % pasa i 23 – 75 % kuja ima mikoplazme u svojem genitalnom traktu, pa su česte mješovite infekcije uzrokovane njima i drugim bakterijama (Binder i sur., 1986.). Vrste rodova *Mycoplasma* i *Ureaplasma* izdvojene su iz sjemene tekućine i urina pasa oboljelih od purulentnog epididimitisa (Sykes, 2014.). Vrsta *M. canis* izolirana je i iz pasa s infekcijom urogenitalnog sustava. Ista je mikoplazma izolirana i iz prostate, epididimisa i kronično upaljenog mokraćnog mjehura (Chalker, 2005.).

Doig i suradnici (1981.) izdvojili su nekoliko vrsta mikoplazma iz vagine i prepucija te posumnjali na povezanost ureaplazma sa sterilnošću u mužjaka. Ulogu mikoplazma u infekcijama reproduktivnog sustava u pasa i mačaka teško je procijeniti jer se mikoplazme često mogu dokazati i na sluznicama zdravih životinja (Sykes, 2014.). Infekcije urinarnog trakta uzrokovane mikoplazmom mogu se očitovati simptomima kao što su hematurija ili strangurija, a oboljeli psi češće razvijaju neoplazije urinarnog trakta, kalkulozu i neurološke poremećaje (Sykes, 2014.).

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 do 40 % (do Nascimento i sur., 2012.). Vrsta *M. haemocanis*, prije svrstana u rod *Haemobartonella*, prebačena je u porodicu *Mycoplasmataceae* na temelju analize 16S rRNA (Messick i sur., 2002.). Hemotropne mikoplazme prijanjaju na površinu crvenih krvnih zrnaca i uzrokuju hemoli-



Slika 3. Žuto obojena gingivalna sluznica i episklera u psa uzrokovana hemolitičkom anemijom (ARCHER i sur., 2013.).

tičku anemiju, najčešće u imunokompromitiranih jedinki ili onih izloženih stresu (Chalker, 2005.). Izvor su infekcije oboljele životinje i kliconoše, a bakteriju prenosi krpelj *Rhipicephalus sanguineus* (Messick, 2003.).

Akutni tijek infekcije uzrokovane hemotropnim mikoplazmama obilježava nagao razvoj anemije, češće u imunokompromitiranih ili splenektomiranih pasa (Chalker, 2005.). Infekcije hemoplazmama uzrokuju žuticu (slika 3), splenomegaliju i hiperplaziju koštane srži (Habrun, 2014.). Prateći simptomi mogu uključivati letargiju, gubitak tjelesne mase, a u nekim slučajevima vrućicu i anoreksiju. U težim slučajevima dolazi do akutne hemolitičke anemije. U nekih pasa uzrokovala je i smrt (Chalker, 2005.). Nadalje, u starijim istraživanjima postoje podaci koji navode da vrsta *M. haemocanis* može uzrokovati infekciju u mačaka, dok vrsta *M. haemofelis* ne može uzrokovati infekciju u pasa (do Nascimento i sur., 2012.).

Infekcije i bolesti živčanog sustava

Mikoplazme su rijetko bile povezivane s bolestima središnjega živčanog sustava (Talarico i sur., 2010.). No dokazano je da mogu prodrijeti u središnji živčani sustav preko ubodnih rana, ascendentnih infekcija unutarnjeg uha ili hematogeno (Sykes, 2014.). Iz središnjega živčanog sustava životinje s granulomatoznim meningoencefalomijelitisom i nekrotizirajućim meningoencefalitisom izdvojena je vrsta *M. canis*, ali značenje njezina pronalaska nije u potpunosti razjašnjeno. Ova mikoplazma može biti povezana s primarnom bolešću ili sekundarno inficirati već inficiranog ili imunosuprimiranog pacijenta (Barber i sur., 2012.).

Nadalje, vrsta *M. edwardii* opisana je kao uzročnik meningoencefalitisa u pasa (Ilha i sur., 2010.). Izolirana je iz mozga šteneta u dobi od šest tjedana s epileptoidnim napadajima (Sykes, 2014.), a slučaj su opisali Ilha i suradnici 2010. godine.

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

Ostale infekcije i bolesti uzrokovane mikoplazmama

U pasa su opisani izolirani slučajevi poliartritisa uzrokovanih infekcijom vrstama *M. spumans* i *M. edwardii* te vrstama *M. gateae* i *M. felis* u mačaka. U povijesti bolesti pasa i mačaka oboljelih od mikoplazmatskog poliartritisa postojali su dokazi o imunokompromitiranosti, mogućoj neoplastičnoj tvorbi, prethodnom kirurškom zahvatu i terapiji glukokortikoidima (imunosupresija). Sistemski znakovi koji se uglavnom pojavljuju pri ovim infekcijama jesu letargija, vrućica te inapetencija praćena hromošću. Mikoplazmatski poliartritis obično poprima kronični tijek koji ne možemo razlikovati od idiopatskog imunosno posredovanog neerozivnog poliartritisa (Nelson i sur., 2014.). Može biti praćen vrućicom, bolnim i otečenim zglobovima, a katkad i lokalnom limfadenopatijom (Sykes, 2014.). Nažalost, izvor mikoplazma u organizmu kao uzročnika septikemije i poliartritisa u pasa nije moguće utvrditi (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.) pokušali su eksperimentalno izazvati kolitis u pasa pomoću soja HRC689. Iako su pronađene lezije unutar kolona, nije se moglo dokazati jesu li one artefakti eksperimentalne infekcije ili pravi znakovi bolesti (Chalker, 2005.).

Dijagnostika mikoplazmoza u pasa

U pasa i mačaka inficiranih mikoplazmama pretrage kao što su kompletna krvna slika, biokemijski profil i pretraga urina nisu dovoljno specifične da bi se dijagnosticirala infekcija mikoplazmama (Sykes, 2014.). Klinički i patološki nalaz povezan s infekcijama vrstama iz rodova *Mycoplasma* i *Ureaplasma* sličan je kao i u infekcija uzrokovanih drugim bakterijama. Neutrofilija i monocitoza česte su u pasa oboljelih od pneumonije, a piurija i proteinurija zabilježene 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 ulijevo uz nalaz toksičnih neutrofila, blagu neregenerativnu anemiju, hipoalbuminemiju i disfunkcije organa uz povišene vrijednosti jetrenih enzima i azotemiju (Sykes, 2014.).

Prepucijalni i vaginalni iscjedak, eksudirajuće kronične rane, nosni iscjedak i sinovijalna tekućina pasa inficiranih vrstama iz rodova *Mycoplasma* i *Ureaplasma* u svojem sadržaju imaju najčešće nedegenerirane neutrofile. U pasa s respiratornom infekcijom, čiji je primarni uzročnik mikoplazma, rendgenska se snimka pluća ne može diferencirati od snimki pluća pasa s mješovitom bakterijskom infekcijom respiratornog sustava (Nelson i sur., 2014.).

Zglobovi pasa i mačaka oboljelih od mikoplazmatskog poliartritisa na rendgenogramima mogu pokazivati edem periartikularnog mekog tkiva. Opisane su i erozivne promjene u subhondralnom dijelu kosti (Sykes, 2014.), dok se u pojedinim kliničkim slučajevima rendgenski dijagnosticiraju i erozivne i neerozivne promjene (Zeugswetter i sur., 2007.).

Citološkom pretragom zahvaćenih tkiva ili tjelesnih tekućina (bronhoalveolarna tekućina dobivena ispiranjem, sinovijalna tekućina i cerebrospinalni likvor) mogu se uočiti neutrofilii, rjeđe histiociti i limfociti, dok je histopatološkom pretragom najčešće vidljiva infiltracija neutrofila, a mogu biti prisutni i histiociti (Sykes, 2014.).

Pouzdana dijagnostika temelji se na uzgoju i izdvajanju mikoplazma na za to predviđenim hranjivim podlogama. Uzorci (obrisci, strugotine sluznica i slično) iz kojih se mogu izdvojiti mikoplazme trebaju se pohraniti u hladni prostor i transportirati do laboratorija u vremenu manjem od 24 sata ili na suhom ledu ako se očekuje dostava u vremenu duljem od 24 sata (Nelson i sur., 2014.). Kolonije mikoplazma izraslih na uobičajenim podlogama za njihovo izdvajanje često nisu vidljive svjetlosnim mikroskopom zbog vrlo malih dimenzija. Stanice mikoplazma ne boje se Gramovim bojenjem jer nemaju stanične stijenke što dodatno otežava identifikaciju potrebnu za postavljanje dijagnoze.

Izdvajanje i identifikacija mikoplazma dugotrajni su, a rezultati mogu biti nejasni. Stoga se u novije vrijeme sve više provode molekularne dijagnostičke metode, odnosno PCR koji omogućuje brzi dokaz mikoplazma u odgovarajućim uzorcima. Metoda je znatno osjetljivija i može biti vrsno specifična (Sykes, 2014.).

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

| ANTIMIKROBNA TVAR | DOZA (mg/kg) | NAČIN APLIKACIJE | INTERVALI (sati) |
|-------------------|--------------|------------------|------------------|
| doksiciklin | 5 do 10 | p/o ili i/v | 12 do 24 |
| enrofloksacin | 5 | p/o ili i/v | 24 |
| marbofloksacin | 2.75 do 5.5 | p/o | 24 |
| pradofloksacin | 3 | p/o | 24 |

no pozitivan rezultat ne potvrđuje da je mikroorganizam još uvijek živ u nositelju (Nelson i sur., 2014.).

S obzirom na to da mikoplazme i ureaplazme mogu biti izdvojene i iz zdravih životinja, interpretacija nalaza mikoplazma u bolesnih životinja je teška. Odgovor na terapiju pojedinim lijekovima, za koje se pouzdano zna da djeluju protiv mikoplazama i ureaplazama, mogu pomoći u dijagnosticiranju bolesti (Nelson i sur., 2014.).

Laboratorijska dijagnostika infekcija hemotropnim mikoplazmama načinjena je od slanja uzoraka na pretragu, izravnog mikroskopiranja (hemotropne mikoplazme slabo se boje prema Gramu, zato se razmaz mora obojiti prema Giemsi), izdvajanja i uzgoja uzročnika te molekularnih postupaka. Hemotropne 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.).

Načela terapije infekcija i bolesti uzrokovanih mikoplazmama u pasa

Zbog svoje karakteristične građe mikoplazme su rezistentne na beta-laktamske antibiotike pa prolongirana terapija antibioticima iz te skupine može zakomplicirati infekciju (Chalker, 2005.). Ispitivanje osjetljivosti na antibiotike za mikoplazme ne primjenjuje se rutinski (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 donjega respiratornog sustava trebala bi trajati 4 do 6 tjedana (Nelson i sur., 2014.).

Tilozin, eritromicin, klindamicin, linkomicin, tetraciklini, kloramfenikol, aminoglikozidi i fluorokinoloni jesu antibiotici izbora za liječenje infekcija uzrokovanih vrstama iz rodova *Mycoplasma* i *Ureaplasma* (Nelson i sur., 2014.). No zabilježena je rezistencija

na neke od tih antibiotika (Stenske i sur., 2005.) kao što su kombinacije trimetoprima i sulfonamida, rifampicina i makrolida (Sykes, 2014.).

Doksiciklin apliciran peroralno u dozi od 5 do 10 mg po kilogramu tjelesne mase svakih 12 – 24 sata, uglavnom je učinkovit u imunokompetentnih životinja, u onih koje nisu u životnoj opasnosti, a pritom djeluju i protuupalno (Nelson i sur., 2014.). U životinja s mješovitim infekcijama, u kojima su uz mikoplazme prisutne i gram-negativne bakterije, u životinja u životnoj opasnosti ili ako je riječ o infekciji sojevima otpornim na tetraciklin, fluorokinoloni ili azitromicin mogu biti dobra alternativa (Nelson i sur., 2014.). Preporučene antimikrobne tvari za liječenje mikoplazmoza pasa te njihovo doziranje i način primjene prikazani su u tablici 2.

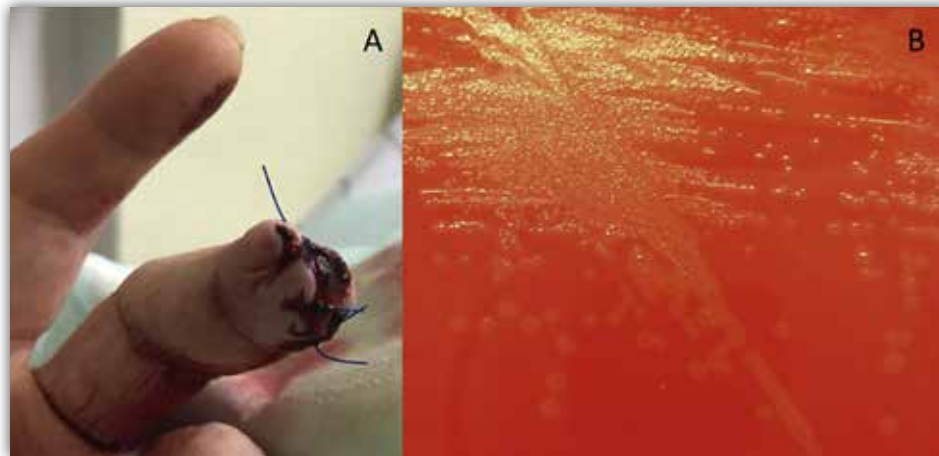
U gravidnih životinja za antimikrobnu terapiju mikoplazmoza preporučaju se eritromicin apliciran peroralno u dozi od 20 mg/kg svakih 8 do 12 sati ili linkomicin peroralno u dozi od 22 mg/kg svakih 12 sati (Nelson i sur., 2014.).

Optimalno trajanje terapije nije određeno, no treba je provoditi najmanje dva tjedna (Sykes, 2014.). Zbog mogućeg razvoja rezistencije pravovaljanu antimikrobnu terapiju treba započeti odmah empirijski, dok se čekaju rezultati uzgoja mikoplazma na čvrstim hranjivim podlogama (Stenske i sur., 2005.).

Infekcije hemotropnim mikoplazmama liječe se tetraciklinskim antibioticima (oksitetraciklin, doksiciklin) (Habrun, 2014.).

Mikoplazme pasa kao uzročnici 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.*



Slika 4. Rana na prstu nakon kirurškog 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.).

arginini izolirana je iz niza nositelja sa znakovima pneumonije, uključujući koze, ovce, zdrave mačke i deve te imunokompromitiranih ljudi (Chalker, 2005.). Hipogamaglobulinemija, humani virus imunodeficiencije, neoplazije, postpartalno razdoblje i imunosupresivna terapija mogu biti potencijalni rizici koji kod ljudi dovode do 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 trećega prsta lijeve ruke nakon ugriza psa (slika 4), 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 mikoplazma već je uspješno izliječena nakon drugoga čišćenja rane.

Napomena

Rad je izvadak iz diplomskog rada Mihaela Galovića *Mikoplazme pasa* (mentorica doc. dr. sc. Selma Pintarić).

Literatura

- APPEL, M., L. N. BINN (1987): Canine infectious tracheobronchitis short review: kennel cough. U: *Virus Infections of Carnivores*. Elsevier, London (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. KAGANOFF (1971): Colonisation of humans by *Mycoplasma canis*. *J. Infect. Dis.* 124, 607-609.
- BALL, H.J., D.G. BRYSON (1982): Isolation of ureaplasmas from pneumonic dog lungs. *Vet. Rec.* 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 Mykoplasmen-species bei Hündinnen mit Fertilitätsstörungen. *Berl. Munch. Tierarztl.* 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. *Res. Vet. Sci.*, 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 (2012): *Mycoplasma haemocanis* – the canine hemoplasma and its feline counterpart in the genomic era. *Vet. Res.* 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): Razred Mollicutes (mikoplazme), U: Klinička veterinarska mikrobiologija. Medicinska naklada Zagreb i Hrvatski veterinarski institut, Zagreb (306-315).
- HONG, S., O. KIM (2012): Molecular identification of *Mycoplasma cynos* from laboratory beagle dogs with respiratory disease, *Lab. Anim. Res.* 28, 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): The Mycoplasmas (class: mollicutes). U: *Clinical Veterinary Microbiology*, 2nd edition. Mosby Elsevier, London, New York, Oxford, Philadelphia, St. Louis, Sydney, Toronto (423-431).
- MAY, M., D. R. BROWN (2009): Secreted sialidase activity of canine mycoplasmas. *Vet. Microbiol.* 137, 380-383.
- MESSICK, J. B. (2003): New perspectives about *Hemotropic mycoplasma* (formerly *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* species) infections in dogs and cats, *Vet. Clin. Small Anim.* 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. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52, 693-698.
- NAGLIĆ, T., D. HAJSIG, J. MADIĆ, L.J. PINTER (2005): 25. Mikoplazme (Razred Mollicutes), U: Veterinarska mikrobiologija: specijalna bakteriologija i mikologija. Manualia universitatis studiorum Zagrabensis/Udžbenici Sveučilišta u Zagrebu, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu (138-167).
- NELSON, R. W., C. G. COUTO (2014): Polysystemic bacterial diseases, *Mycoplasma* and *Ureaplasma*. U: *Small animal internal medicine*, 5th edition, Mosby Elsevier (1115-1324).
- 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, 387-391.
- SENEVIRATNA, P., N. WEEASINGHE, S. ARIYADASA (1973): Transmission of *Haemobartonella canis* by the dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Res. Vet. Sci.* 14, 112-114.
- SHOETENSACK, H. M. (1934): Pure cultivation of filterable virus isolated from canine distemper. *Ki-tasako Arch. 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): *Mycoplasma* infections. U: *Canine and feline infectious diseases*. 5th edition, Mosby Elsevier (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. HITTMAIR, A. G. DE ARESPACOCHAGA (2007): Erosive polyarthritis associated with *Mycoplasma gateae* in a cat, *J. Feline Med. Surg.* 9, 226-231.