

Antimikrobna osjetljivost i kretanje antimikrobne rezistencije bakterijskih uzročnika infekcija urinarnog trakta u pasa izdvojenih u Hrvatskoj u razdoblju 2012. – 2022. godine

G. Kompes, B. Habrun*, M. Benić, L. Cvetnić, S. Špičić, S. Duvnjak, I. Reil, M. Zdelar-Tuk, Ž. Cvetnić, B. Šeol Martinec i A. Bagarić



Sažetak

Bakterijske infekcije urinarnog trakta (IUT) u pasa su učestale. Porast antimikrobne rezistencije i uporaba kritično-važnih antimikrobnih lijekova, osobito u liječenju IUT pasa, zabrinjavajuća je zbog pojave multiplo rezistentnih bakterijskih sojeva. Cilj ovog rada bio je prikazati prevalenciju i antimikrobnu rezistenciju najčešćih bakterijskih uzročnika IUT pasa i trendove antimikrobne rezistencije izdvojenih bakterijskih sojeva u Republici Hrvatskoj tijekom 11 godina. Od ukupno 2721 pretraženih uzoraka urina, pozitivno je bilo 1363 (50,1 %). Bakterijska vrsta *Escherichia coli* bila je najčešće izdvojeni mikroorganizam (47,3 %), nakon čega slijede: koagulaza pozitivni *Staphylococcus* sp. (20,7 %), *Proteus* sp. (14,7 %), *Enterococcus* sp. (13,6 %), beta hemolitični *Streptococcus* sp. (11,7 %), *Pseudomonas aeruginosa* (4,5 %) i meticilin rezistentni ko-

agulaza pozitivni *Staphylococcus* sp. (3,4 %). Kod gram-negativnih bakterija uočen je visok stupanj osjetljivosti na: gentamicin, amikacin (77,9 % – 97,3 %), marbofloksacin i ciprofloksacin (69,7 % – 98,4 %). Kod bakterijskog roda *Proteus* utvrđen je i visok stupanj osjetljivosti na beta-laktame (70,5 % – 86,7 %), a kod *Escherichia coli* i na kloramfenikol (73,3 %) i trimetoprim/sulfametoksazol (72,7 %). Neznatan postotak koagulaza pozitivnih *Staphylococcus* sp. bila je osjetljiva na penicilin (10,6 %) i ampicilin (16,7 %), dok je mala osjetljivost zamijećena na streptomycin, neomicin i tetracikline (56,0 % – 66,0 %). Najmanji postotak beta hemolitičnih *Streptococcus* sp. bio je osjetljiv na aminoglikozide, tetracikline (8,2 % – 31,9 %) i fluorokinolone (31,5 % – 61,6 %). Kod bakterijskih izolata *Enterococcus* sp. najveća osjetljivost prisutna je na amoksicilin/klavulansku kiselinu (78,0 %)

Dr. sc. Gordan KOMPES, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik, dr. sc. Boris HABRUN*, dr. med. vet., znanstveni savjetnik u trajnom zvanju, izvanredni profesor, (dopisni autor, e-mail: habrun@veinst.hr), Antonela BAGARIĆ, dr. med. vet., asistent, dr. sc. Miroslav BENIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik u trajnom zvanju, docent, dr. sc. Luka CVETNIĆ, dr. med. vet., znanstveni suradnik, dr. sc. Silvio ŠPIČIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik u trajnom zvanju, dr. sc. Sanja DUVNJAK, mag. biol. mol., viša znanstvena suradnica, dr. sc. Irena REIL, dr. med. vet., znanstvena suradnica, dr. sc. Maja ZDELAR-TUK, dr. med. vet., znanstvena savjetnica, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska, dr. sc. Željko CVETNIĆ, dr. med. vet., akademik, Hrvatski veterinarski institut – Veterinarski zavod Križevci, Hrvatska; dr. sc. Branka ŠEOL MARTINEC, dr. med. vet., redovita profesorica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

i ampicilin (70,4 %). Amikacin i kloramfenikol, s postotkom osjetljivosti od 89,3 %, odnosno 80,9 %, bili su jedini antimikrobni lijekovi učinkoviti na meticilin rezistentne koagulaza pozitivne *Staphylococcus* sp. Tijekom 11 godina istraživanja zamijećen je trend porasta antimikrobne rezistencije bakterija *Escherichia coli* i *Proteus* sp., izdvojenih iz IUT pasa, na fluorokinolone, ampicilin i amoksicilin/klavulansku

kiselinu, dok je kod bakterijske vrste *Escherichia coli* uočen porast antimikrobne rezistencije i na cefalosporine. Ovi rezultati će pomoći pri empirijskom odabiru antimikrobnih lijekova za terapiju IUT pasa te podizanju svijesti o razumnoj uporabi antimikrobnih lijekova.

Cljučne riječi: antimikrobna rezistencija, IUT, antimikrobni lijekovi, osjetljivost

Uvod

Bakterijske infekcije urinarnog trakta (IUT) česte su u pasa i predstavljaju jedan od najčešćih razloga uporabe antimikrobnih lijekova u veterinarskoj medicini (Gomez-Poveda i Moreno, 2018.). Ne-komplicirane IUT pasa javljaju se u približno 14 % pasa tijekom njihovog života, dok se perzistentne i ponavljajuće infekcije javljaju u približno 4,5 % pasa s IUT (Ling, 1984., Thomsen i sur., 1986., Norris i sur., 2000.). Najčešći su uzrok IUT-a patogeni mikroorganizmi, koji uključuju: bakterije, gljivice, protozoe i viruse (Guardabassi, 2004., Yu i sur., 2020.). Starost i spol životinje su najčešći čimbenici koji doprinose pojavi IUT. Istraživanja su pokazala da su IUT do 5 puta učestalije u ženskih životinja te da je prosječna dob u kojoj se pojavljuju IUT u pasa od 7.-8. godine života (Thomsen i sur., 1986., Ling i sur., 2001., Cohn i sur., 2003., Bartges, 2004., Wong i sur., 2015., Yu i sur., 2020.). Ostali čimbenici koji pridonose razvoju IUT pasa su: smanjena tjelesna kondicija, anatomske abnormalnosti i funkcionalne nepravilnosti donjeg dijela urinarnog trakta, nemogućnost pražnjenja mjehura, urinarna inkontinencija, urolitijaza, kronična bolest bubrega, hipertireoidizam i imunosupresija (Byron, 2019.). Najčešći bakterijski uzročnici IUT u pasa su: *Escherichia (E.) coli* (35-69 %), *Staphylococcus* sp. (5-20 %), *Enterococcus* spp. (3-20 %), *Proteus* sp. (6-11 %), *Streptococcus* sp. (5-8

%) i *Pseudomonas (P.) aeruginosa* (3,7 %) (Ling i sur., 2001., Ball i sur., 2008., Hall i sur., 2013., Windahl i sur., 2014., Wong i sur., 2015., McMeekin i sur., 2017.). Najučestalija vrsta u rodu *Enterococcus* sp. jest *Enterococcus (E.) faecalis* (73,1 %), dok je *Staphylococcus (S.) pseudintermedius*, sa 91,3 %, najzastupljenija vrsta među koagulaza-pozitivnim *Staphylococcus* sp. (KoPS) (Aurich i sur., 2022.). Razlog zašto je bakterijska vrsta *E. coli* najučestaliji uzročnik IUT objašnjeno je istraživanjima u kojima je utvrđeno da su uropatogeni sojevi bakterije *E. coli* prisutni u gastrointestinalnom traktu oboljelih životinja (Low i sur., 1988., Johnson i sur., 2003.).

Dok je većina nekomplikiranih bakterijskih infekcija izlječiva nakon 2-3 tjedna uporabe antimikrobnih lijekova, najčešće *per os*, perzistentne ili rekurentne IUT najčešće su prouzročene rezistentnim bakterijskim izolatima te su vrlo teško izlječive konvencionalnom antimikrobnom terapijom (Thompson i sur., 2011.). Iz tog razloga, mikrobiološka pretraga urina, u kombinaciji s određivanjem osjetljivosti bakterija prema antimikrobnim lijekovima, te individualni terapijski pristup svakoj životinji, predstavlja osnovu za obazrivu uporabu antimikrobnih lijekova te sprečavanje pojave antimikrobne rezistencije (Bartges, 2004., Ball i sur., 2008.). Svako empirijsko liječenje IUT može dovesti do odabira pogrešnog antimikrobnog lijeka,

pojavu nuspojava te selektivnog pritiska antimikrobnih lijekova, što u konačnici rezultira umnažanjem rezistentnih bakterijskih sojeva, porastom antimikrobne rezistencije, nastankom multiplo rezistentnih sojeva i poremetnjom fiziološke mikroflore (Wong i sur., 2015.).

Osim toga, radi se i o javnozdravstvenom problemu, jer se geni za rezistenciju, koji se nalaze na mobilnim genetičkim elementima, mogu prenositi između bakterija podrijetlom od ljudi i životinja (Guardabassi i sur., 2004., Ewers i sur., 2011.). Posljedice su neuspješna antimikrobna terapija, povećanje troškova liječenja i komplikacije u veterinarskoj medicini i u javnom zdravstvu (Cummings i sur., 2015.). Stoga je Međunarodna udruga za zarazne bolesti kućnih ljubimaca (ISCAID; International Society for Companion Animal Infectious Diseases) objavila smjernice za liječenje IUT u pasa. Empirijsko liječenje trebalo bi se provoditi isključivo na poznatim podatcima o prevalenciji i antimikrobnoj rezistenciji pa se amoksicilin, amoksicilin/klavulanska kiselina i trimetoprim/sulfonamidi smatraju prvim lijekom izbora za empirijsko liječenje IUT u pasa. Nitrofurantoin, fluorokinoloni i treća generacija cefalosporina preporuča se samo u slučajevima kada se utvrdi rezistencija na lijekove prvog izbora (Weese i sur., 2019.).

Svjetska zdravstvena organizacija (WHO; World Health Organisation) objavila je popis kritično-važnih antimikrobnih lijekova koji se ne bi smjeli upotrebljavati u veterinarskoj medicini. Među njima su između ostalog i cefalosporini 3., 4. i 5. generacije i kinoloni (WHO, 2018.). De Briyne i sur. (2014.) su proveli istraživanje u kome je sudjelovalo više od 3000 veterinara iz 25 europskih zemalja u kome su otkrili da 27 % antimikrobnih lijekova, koji se koriste za liječenje IUT pasa, pripada skupini kritično-potreb-

nih antibiotika prema WHO, ali postoji sve veći broj istraživanja koja ukazuju na sve veću uporabu fluorokinolona i cefalosporina 3. generacije za liječenje životinja, osobito IUT (Buckland i sur., 2016., Burke i sur., 2017., Singleton i sur., 2018., Van Cleven i sur., 2018.). To za posljedicu ima povećanje postotka rezistencije bakterijskih izolata izdvojenih iz urinarnog trakta pasa na te lijekove (Normand i sur., 2000., Cooke i sur., 2002., Prescott i sur., 2002., Cohn i sur., 2003., Ewers i sur., 2011., Weese i sur., 2011., Dierikx i sur., 2012.).

Cilj je ovog rada bio prikazati prevalenciju i antimikrobnu rezistenciju najčešćih bakterijskih uzročnika IUT pasa te trendove antimikrobne rezistencije izdvojenih bakterijskih sojeva u Republici Hrvatskoj u razdoblju od 2012. - 2022. godine. Rezultati će pomoći pri empirijskom odabiru antimikrobnih lijekova za terapiju IUT pasa te podizanju svijesti o razumnoj uporabi antimikrobnih lijekova.

Materijali i metode

Bakterijski izolati

U razdoblju od siječnja 2012. godine do prosinca 2022. godine u Laboratorij za opću bakteriologiju i mikologiju Hrvatskog veterinarskog instituta (HVI-a) zaprimljeno je ukupno 2721 uzorak urina pasa sa sumnjom na IUT. Uzorci su poslani iz veterinarskih ambulanta, uglavnom s područja Grada Zagreba i dobiveni su slobodnim hvatom srednjeg mlaza, kate-terizacijom ili cistocentezom.

Nakon zaprimanja u laboratorij, uzorci urina su kalibriranom, sterilnom, jednokratnom ezom volumena 0,01 mL nacjepljeni na krvni agar (OXOID Blood agar base No. 2 + 5 % defibrinirane ovčje krvi) i XLD agar (Merck). Nakon inkubacije u aerobnim uvjetima, na temperatu-

ri od 37° C, tijekom 18-24 sata, ploče su pregledane da bi se utvrdio bakterijski porast, morfologija i boja bakterijskih kolonija te odredio približan broj kolonija (CFU; Colony forming units) u mililitru urina (CFU/mL). Pozitivnim su smatrani svi uzorci urina u kojima je utvrđeno > 10³ CFU/mL. Ukoliko nije utvrđen bakterijski porast, hranjive podloge su inkubirane daljnjih 24 sata. Ukoliko i dalje nije zamijećen porast bakterija, uzorci su proglašeni negativnim.

Porasle bakterijske kolonije precjepljene su na krvni agar i kromogeni UTI agar (OXOID, Brilliance™ UTI Agar) te inkubirane na temperaturi od 37 °C, tijekom 18-24 sata.

Završna identifikacija bakterija provedena je biokemijskim nizovima API32E (API, bioMérieux) i BBL™ Crystal Gram Positive ID Kit (Becton Dickinson, MD, SAD).

Antimikrobna rezistencija

Antimikrobna je rezistencija izdvojenih bakterijskih izolata određena Kirby-Bauerovom disk-difuzijskom metodom uz korištenje komercijalnih antibiotičkih diskova (BD BBL, MASTDISCS). Metoda je provedena prema važećim *Clinical Laboratory Standard Institute* standardima u vrijeme ispitivanja (NCCLS, 2002., CLSI 2008., CLSI 2013, CLSI 2018.). Interpretacije zona inhibicije bakterijskog rasta procjenjene su na osnovu važećih *Clinical Laboratory Standard Institute* standarda (VET 01 S2, 2013., VET01S 2015., VET08, 2018., VET 01S, 2020., M100 S22, 2012.) te su bakterijski izolati definirani kao: osjetljivi (S - Sensitive), umjereno osjetljivi (I - Intermediate) i rezistentni (R - Resistant).

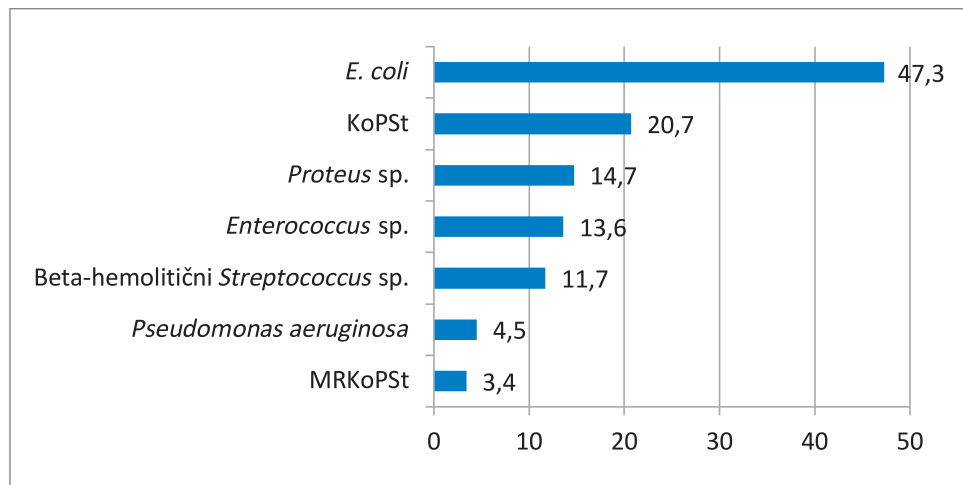
Antimikrobni lijekovi korišteni u ovom istraživanju su: ampicilin, amoksisicilin/klavulanska kiselina, ceftiofur, cefotaksim, cefpodoksim, cefaleksin, ciprofloksacin, enrofloksacin, marbofloksacin,

pradofloksacin, trimetoprim/sulfametoksazol, streptomycin, neomicin, gentamicin, amikacin, tetraciklin, doksiciklin, azitromicin, kloramfenikol, dok su kod gram-pozitivnih bakterija korišteni još penicilin G, eritromicin i klindamicin.

Kod koagulaza pozitivnih stafilokoka (KoPSt), kod kojih se zbog fenotipa posumnjano da se radi o meticilin rezistentnim sojevima (MRKoPSt), isto je potvrđeno diskovima oksacilina i cefoksitina. Za kontrolu kvalitete postupka korišteni su sojevi *S. aureus* ATCC 25923 i *E. coli* 25922.

Rezultati

Tijekom 11 godina, u razdoblju od 2012. – 2022. godine, u Laboratoriju za opću bakteriologiju i mikologiju Hrvatskog veterinarskog instituta, pretraženo je ukupno 2721 uzorak urina pasa. Pozitivno je bilo 1363 uzorka (50,1 %) iz kojih je ukupno izdvojeno 1680 uzročnika IUT. Iz 1046 uzoraka (76,7 %) izdvojena je samo jedna bakterijska vrsta, dok su kod 317 uzoraka (23,3 %) izdvojene dvije bakterijske vrste. Od ukupnog broja bakterijskih izolata, gram-negativnih bakterija je bilo 955 (56,8 %), a gram-pozitivnih 725 (43,2 %). Najčešći izdvojeni bakterijski uzročnici bili su *E. coli* (47,3 %, 645/1363), KoPSt (20,7 %, 282/1363), *Proteus* sp. (14,7 %, 200/1363), *Enterococcus* sp. (13,6 %, 186/1363), beta hemolitični *Streptococcus* sp. (11,7 %, 160/1363), *P. aeruginosa* (4,5 %, 61/1363), MRKoPSt (3,4 %, 47/1363). Ostali bakterijski uzročnici, čije rezultate antimikrobne rezistencije nismo naveli u ovom radu, su: alfa hemolitični *Streptococcus* sp. (2,2 %, 29/1363), *Corynebacterium* sp. (0,8 %, 11/1363), *Klebsiella* sp. (0,8 %, 11/1363), *Serratia* sp., *Pasteurella* sp., *Bacillus cereus*, *Enterobacter* sp., koagulaza negativni *Staphylococcus* sp., *Micrococcus* sp. (3,5 %, 48/1363) (Grafikon 1.)



Grafikon 1. Postotak izdvojenih bakterijskih uzročnika IUT pasa u razdoblju 2012. – 2022. godine

Od ukupno 645 izolata bakterije *E. coli*, 181 izolat je bio beta-hemolitičan. Većina KoPSt je na osnovu porasta na UTI agaru identificirana kao *S. pseudintermedius* (94,3 %, 266/282), dok je kod roda *Enterococcus sp.*, na osnovu biokemijske identifikacije, 75,3 % sojeva (140/186) pripadalo vrsti *E. faecalis*. Rezultati antimikrobne osjetljivosti gram-negativnih i gram-pozitivnih bakterija prikazani su u tabelama br. 1 i 2.

Najveća osjetljivost bakterijskih izolata *E. coli* utvrđena je na amikacin (89,0 %), gentamicin (82,8 %), kloramfenikol (73,3 %), trimetoprim/sulfametoksazol (72,7 %), cefalosporine III generacije (cef-tiofur 74,0 %; cefotaksim 68,9 %), fluorokinolone (ciprofloksacin 71,3 %; marbofloksacin 69,7 %; enrofloksacin 65,8 %; pradofloksacin 64,2 %). Umjerena osjetljivost utvrđena je na azitromicin (63,3 %), tetracikline (tetraciklin 64,0 %; doksiciklin 57,4 %), cefpodoksim (57,4 %), cefaleksin (54,6 %), amoksisilin/klavulansku kiselinu (54,3 %) i ampicilin (41,6 %). Najmanja osjetljivost potvrđena je na neomicin (38,4 %) i streptomycin (33,0 %).

Više od 80 % bakterijskih sojeva *Proteus sp.* izdvojenih iz IUT pasa bilo je osjetljivo na cefalosporine 3. generacije (ceftiofur 86,7 %; cefotaksim 85,1 %; cefpodoksim 85,6 %), amoksisilin/klavulansku kiselinu i gentamicin (80,0 %). Veliki postotak izolata bio je osjetljiv na amikacin (77,9 %) i ampicilin (70,5 %). Umjerena do velika osjetljivost izolata *Proteus sp.* utvrđena je na fluorokinolone (ciprofloksacin 74,5 %; marbofloksacin 70,2 %; enrofloksacin 65,6 %; pradofloksacin (58,7 %) i trimetoprim/sulfametoksazol (62,5 %). Najmanja osjetljivost utvrđena je na kloramfenikol (36,1 %), neomicin (40,5 %), streptomycin (35,0 %), tetraciklin (7,0 %), doksiciklin (3,8 %) i azitromicin (0,8 %).

Kod svih bakterijskih izolata bakterijske vrste *P. aeruginosa* utvrđena je rezistencija na beta-laktamske antibiotike, trimetoprim/sulfametoksazol, tetracikline (100,0 %) i kloramfenikol. Vrlo mali postotak sojeva bio je osjetljiv na azitromicin (14 %), streptomycin (11,5 %) i neomicin (26,2 %). Najveća osjetljivost bakterijskih izolata *P. aeruginosa* izdvojenih

Tabela 1. Antimikrobna osjetljivost gram-negativnih bakterija izdvojenih iz IUT pasa u razdoblju 2012. – 2022.

Antimikrobni lijek	<i>E. coli</i> (n = 645)			<i>Proteus sp.</i> (n = 200)			<i>P. aeruginosa</i> (n = 61)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Ampicilin	41,6 %	11,8 %	46,7 %	70,5 %	2,5 %	27,0 %			UR
Amoksicilin/ klavulanska kiselina	54,3 %	24,0 %	21,7 %	80,0 %	7,5 %	12,5 %			UR
Ceftiofur	74,0 %	10,5 %	15,6 %	86,7 %	2,1 %	11,3 %	0,0 %	0,0 %	100,0 %
Cefotaksim	68,9 %	12,2 %	19,0 %	85,1 %	4,6 %	10,3 %			UR
Cefpodoksimum	57,4 %	19,8 %	22,7 %	85,6 %	3,8 %	10,6 %	0,0 %	0,0 %	100,0 %
Cefaleksin	54,6 %	5,6 %	39,8 %	55,0 %	4,2 %	40,8 %	0,0 %	0,0 %	100,0 %
Ciprofloksacin	71,3 %	6,2 %	22,5 %	74,5 %	15,0 %	10,5 %	98,4 %	0,0 %	1,6 %
Enrofloksacin	65,8 %	11,2 %	23,1 %	65,6 %	10,6 %	23,9 %	38,9 %	44,4 %	16,7 %
Marbofloksacin	69,7 %	5,2 %	25,1 %	70,2 %	14,4 %	15,4 %	85,3 %	8,8 %	5,9 %
Pradofloksacin	64,2 %	9,7 %	26,1 %	58,7 %	11,5 %	29,8 %	52,9 %	35,3 %	11,8 %
Streptomycin	33,0 %	29,0 %	38,0 %	35,0 %	24,0 %	41,0 %	11,5 %	14,8 %	73,8 %
Neomicin	38,4 %	3,9 %	57,7 %	40,5 %	6,5 %	53,0 %	26,2 %	11,5 %	62,3 %
Gentamicin	82,8 %	5,7 %	11,5 %	80,0 %	8,5 %	11,5 %	95,1 %	1,6 %	3,3 %
Amikacin	89,0 %	5,5 %	5,5 %	77,9 %	14,4 %	7,7 %	97,3 %	0,0 %	2,7 %
Tetraciklin	64,0 %	8,7 %	27,3 %			UR			UR
Doksiciklin	57,4 %	13,3 %	29,2 %			UR			UR
Trimetoprim/ sulfametoksazol	72,7 %	2,3 %	25,0 %	62,5 %	1,5 %	36,0 %			UR
Azitromicin	63,3 %	18,2 %	18,5 %	0,8 %	5,7 %	93,4 %	14,0 %	20,9 %	65,1 %
Kloramfenikol	73,3 %	13,4 %	13,4 %	36,1 %	26,7 %	37,2 %			UR

UR – Urođena rezistencija

iz IUT pasa utvrđena je na ciprofloksacin (98,4 %), amikacin (97,3 %), gentamicin (95,1 %) i marbofloksacin (85,3 %).

Kod svih sojeva KoPSt (100,0 %), kao najčešće izdvojenog gram-pozitivnog uzročnika IUT u pasa, utvrđena je osjetljivost na amoksicilin/klavulansku kiselinu

i cefalosporine. Velika osjetljivost utvrđena je na amikacin (94,9 %), fluorokinolone (pradofloksacin 95,7 %; marbofloksacin 94,9 %; ciprofloksacin 90,4%; enrofloksacin 88,5%), gentamicin (85,2 %), kloramfenikol (82,6 %), trimetoprim/sulfametoksazol (76,2 %) i azitromicin (72,2 %). Naj-

Tabela 2. Antimikrobna osjetljivost Gram-pozitivnih bakterija izdvojenih iz IUT pasa u razdoblju 2012. – 2022.

Antimikrobni lijek	KoPst (n = 282)			Enterococcus sp. (n = 186)			Beta-hemolitični Streptococcus sp. (n = 160)			MRKoPst (n = 47)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Ampicilin	16,7 %	0,7 %	82,6 %	70,4 %	2,7 %	26,9 %	93,1 %	0,6 %	6,3 %	0,0 %	0,0 %	100,0 %
Amoksisicilin/ klavulanska kiselina	100,0 %	0,0 %	0,0 %	78,0 %	2,2 %	19,9 %	99,4 %	0,0 %	0,6 %	0,0 %	0,0 %	100,0 %
Ceftiofur	100,0 %	0,0 %	0,0 %	UR	UR	UR	97,5 %	0,6 %	1,9 %	0,0 %	0,0 %	100,0 %
Cefotaksim	100,0 %	0,0 %	0,0 %	UR	UR	UR	96,7 %	1,3 %	2,0 %	0,0 %	0,0 %	100,0 %
Cefpodoxim	100,0 %	0,0 %	0,0 %	UR	UR	UR	96,3 %	0,0 %	3,7 %	0,0 %	0,0 %	100,0 %
Cefaleksin	100,0 %	0,0 %	0,0 %	UR	UR	UR	96,8 %	1,1 %	2,2 %	0,0 %	0,0 %	100,0 %
Ciprofloksacin	90,4 %	2,5 %	7,1 %	24,7 %	33,3 %	41,9 %	50,0 %	38,8 %	11,3 %	8,5 %	0,0 %	91,5 %
Enrofloksacin	88,5 %	4,3 %	7,2 %	19,5 %	45,0 %	35,5 %	33,3 %	54,4 %	12,2 %	0,0 %	2,6 %	97,4 %
Marbofloksacin	94,9 %	1,7 %	3,4 %	14,4 %	42,2 %	43,3 %	31,5 %	64,4 %	4,1 %	10,7 %	0,0 %	89,3 %
Pradofloksacin	95,7 %	2,6 %	1,7 %	18,4 %	32,0 %	49,5 %	61,6 %	21,9 %	16,4 %	10,7 %	7,1 %	82,1 %
Streptomycin	56,0 %	9,6 %	34,4 %	UR	UR	UR	5,6 %	9,4 %	85,0 %	4,3 %	6,4 %	89,4 %
Neomicin	60,5 %	9,3 %	30,2 %	UR	UR	UR	18,8 %	6,9 %	74,4 %	0,0 %	2,1 %	97,9 %
Gentamicin	85,2 %	1,1 %	13,8 %	UR	UR	UR	UR	UR	36,2 %	0,0 %	0,0 %	63,8 %
Amikacin	94,9 %	3,4 %	1,7 %	UR	UR	UR	UR	UR	89,3 %	3,6 %	7,1 %	7,1 %
Tetraciklin	66,0 %	10,6 %	23,4 %	32,3 %	11,8 %	55,9 %	31,9 %	15,6 %	52,5 %	10,6 %	10,6 %	78,7 %
Doksiciklin	57,3 %	19,7 %	23,1 %	17,8 %	7,8 %	74,4 %	8,2 %	12,3 %	79,5 %	14,3 %	10,7 %	75,0 %
Trimetoprim/ sulfametoksazol	76,2 %	4,3 %	19,5 %	UR	UR	UR	72,5 %	9,4 %	18,1 %	0,0 %	0,0 %	100,0 %
Azitromicin	72,2 %	5,3 %	22,6 %	24,8 %	13,3 %	61,9 %	79,8 %	8,3 %	11,9 %	0,0 %	3,6 %	96,4 %
Kloramfenikol	82,6 %	3,5 %	13,8 %	60,2 %	25,3 %	14,5 %	73,1 %	18,8 %	8,1 %	80,9 %	4,3 %	14,9 %
Penicilin	10,6 %	0,0 %	89,4 %	60,8 %	1,1 %	38,2 %	93,1 %	0,0 %	6,9 %	0,0 %	0,0 %	100,0 %
Klindamicin	69,5 %	9,3 %	21,2 %	UR	UR	UR	41,1 %	45,2 %	13,7 %	3,6 %	10,7 %	85,7 %
Eritromicin	63,1 %	4,6 %	32,3 %	23,1 %	30,1 %	46,8 %	70,0 %	12,5 %	17,5 %	0,0 %	0,0 %	100,0 %

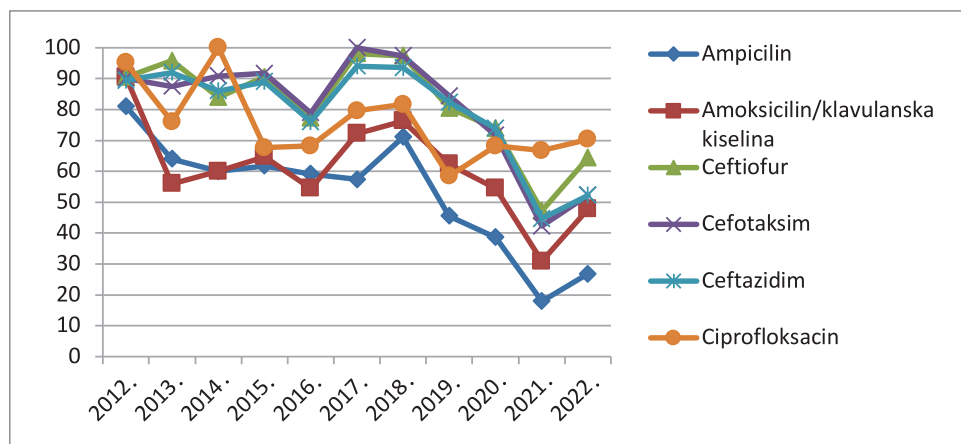
UR – Urođena rezistencija

veća rezistencija utvrđena je na penicilin (89,4 %) i ampicilin (82,6 %).

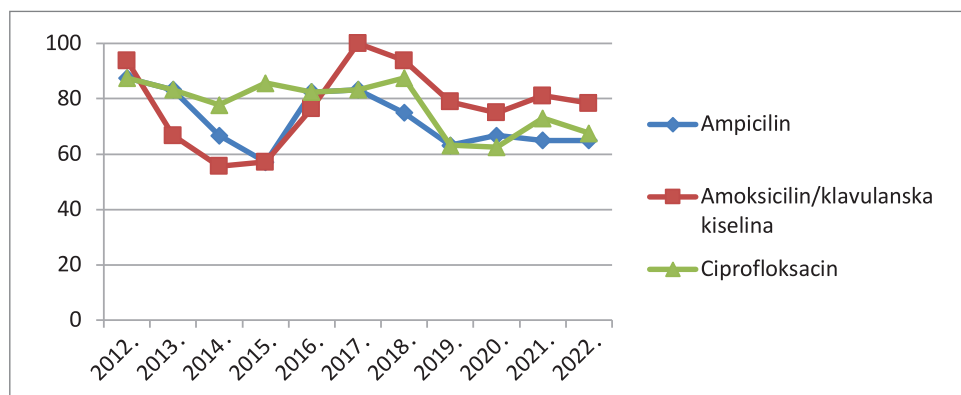
Kod 78,0 % bakterijskih izolata *Enterococcus* sp. izdvojenih iz IUT pasa uočena je osjetljivost na amoksisilin/klavulansku kiselinu, dok je kod 70,4 % izolata utvrđena osjetljivost na ampicilin. Osjetljivost na ostale antimikrobne lijekove bila je niska (penicilin 60,8 %; kloramfenikol 60,2 %) te izrazito niska (gentamicin 51,6 %; trimetoprim/sulfametoksazol 50,0 %; tetraciklin 32,3 %; cefotaksim 27,2 %; ceftiofur 25,3 %; azitromicin 24,8 %;

ciprofloksacin 24,7 %; eritromicin 23,1 %; cefaleksin 21,0 %; enrofloksacin 19,5 %; pradofloksacin 18,4 %; doksiciklin 17,8 %; neomicin 17,7%; marbofloksacin 14,4 %; amikacin 13,3 %; streptomycin 11,1 %; cefpodoksime i klindamicin 8,9 %).

Najveći broj bakterijskih izolata beta hemolitičnih *Streptococcus* sp. bilo je osjetljivo na amoksisilin/klavulansku kiselinu (99,4 %), cefalosporine (ceftiofur 97,5 %; cefotaksim 96,7 %; cefaleksin 96,8 %; cefpodoksime 96,3 %), ampicilin i penicilin (93,1 %). Kod nešto manjeg postotka



Grafikon 2. Kretanje antimikrobne osjetljivosti bakterijske vrste *E. coli* izdvojene iz IUT pasa u razdoblju 2012. – 2022. godine



Grafikon 3. Kretanje antimikrobne osjetljivosti bakterijske vrste *Proteus* sp. izdvojene iz IUT pasa u razdoblju 2012. – 2022. godine

izolata utvrđena je osjetljivost na azitromicin (79,8 %), kloramfenikol (73,1 %), trimetoprim/sulfametoksazol (72,5 %) i eritromicin (70,0 %). Najmanja osjetljivost utvrđena je na fluorokinolone (pradofloksacin 61,6 %; ciprofloksacin 50,0 %; enrofloksacin 33,3 %; marbofloksacin 31,5 %), klindamicin (41,1 %), tetraciklin (31,9 %), neomicin (18,8 %), doksiciklin (8,2 %) i streptomycin (5,6 %).

MRKoPSt sojevi su po pravilu rezistentni na beta-laktamske antibiotike (penicilin, ampicilin, amokscilin/klavulanska kiselina, ceftiofur, cefotaksim, cefpodosim, cefaleksin). Rezistencija kod svih izdvojenih izolata MRKoPSt u ovom istraživanju (100,0 %) utvrđena je i na eritromicin i trimetoprim/sulfametoksazol. Izdvojeni sojevi MRKoPSt u najvećem su postotku bili osjetljivi na amikacin (89,3 %), kloramfenikol (80,9 %). Na ostale antimikrobne lijekove utvrđena je osjetljivost vrlo malog broja izolata.

U razdoblju od 2012. do 2022. godine zabilježen je trend pada antimikrobne osjetljivosti bakterijske vrste *E. coli* na ampicilin, amokscilin/klavulansku kiselinu, cefalosporine III generacije te fluorokinolone (Grafikon 2.) Za ostale antimikrobne lijekove nije utvrđen trend pada osjetljivosti.

Kod bakterije *Proteus* sp., izdvojene iz urinarnog trakta pasa, tijekom 11 godina praćenja antimikrobne rezistencije zabilježen je trend pada osjetljivosti na četiri antimikrobna lijeka: ampicilin, amokscilin/klavulansku kiselinu, fluorokinolone i trimetoprim/sulfametoksazol (Grafikon 3.)

Rasprava

Bakterijske IUT predstavljaju najčešće bakterijske infekcije u pasa. U razdoblju od 2012.-2022. godine, u Laboratoriju za opću bakteriologiju i mikologiju HVI-a, pretraženo je ukupno 2721 uzorak urina pasa, od čega je pozitivno bilo 1363 uzor-

ka, odnosno 50,1 %. U skladu s ranijim istraživanjima, izdvojeno je sedam najčešćih bakterijskih patogena IUT pasa, među kojima je bakterijska vrsta *E. coli* najčešća (Norris i sur., 2000., Ling i sur., 2001., Prescott i sur., 2002., Ball i sur., 2008., Hall i sur., 2013., Windahl i sur., 2014., Wong i sur., 2015., Marques i sur., 2016., McMee-kin i sur., 2016., Moyaert i sur., 2017.). Kod obje najčešće izdvojene gram-negativne bakterije, *E. coli* i *Proteus* spp., najveća osjetljivost utvrđena je na amikacin, gentamicin, trimetoprim/sulfametoksazol, cefalosporine III generacije i fluorokinolone (60,0 %-89,0 %). Kod bakterijske vrste *E. coli* veliki broj izolata bio je osjetljiv i na kloramfenikol (73,3 %), dok je kod roda *Proteus* sp. utvrđena velika osjetljivost na amokscilin/klavulansku kiselinu (80,0 %). Na amokscilin/klavulansku kiselinu, kao najčešći antimikrobni lijek koji se koristi za liječenje IUT pasa, osjetljivo je bilo 54,3 % izolata bakterijske vrste *E. coli*. Slični rezultati objavljeni su u Portugalu (Marques i sur., 2016., Marques i sur., 2018.), Italiji (Smoglica i sur., 2022.), SAD-u (Ekakoro i sur., 2022.), Tajlandu (Amphaiphan i sur., 2021.) i Južnoj Africi (Qekwana i sur., 2018.).

Trendovi antimikrobne rezistencije u ovom istraživanju pokazuju da je tijekom 11 godina došlo do smanjenja postotka antimikrobne osjetljivosti bakterija *E. coli* i *Proteus* sp. na antimikrobne lijekove koji predstavljaju lijekove prvog izbora u liječenju IUT pasa (ampicilin, amokscilin/klavulanska kiselina). Činjenica koja zabrinjava jest da je kod obje bakterijske vrste u razdoblju od 2012.-2022. godine došlo do pada osjetljivosti na fluorokinolone te smanjenja postotka osjetljivosti bakterijske vrste *E. coli* na cefalosporine 3. generacije, koji predstavljaju drugu liniju obrane. Ovakav trend zamijećen je i u ranijim istraživanjima (Normand i sur., 2000., Gibson i sur., 2008., Rzewuska i

sur., 2015.), a razlog jest povećana uporaba lijekova druge linije, osobito u liječenju IUT (Buckland i sur., 2016., Burke i sur., 2017., Singleton i sur., 2018., Van Cleven i sur., 2018.).

Bakterijska vrsta *P. aeruginosa* ima urođenu antimikrobnu rezistenciju na: ampicilin, amoksicilin/klavulansku kiselinu, cefotaksim, tetracikline, trimetoprim/sulfametoksazol i kloramfenikol i osjetljivost na navedena antimikrobna sredstva, kod ove bakterijske vrste ne bi trebalo ispitivati (M100 S31, 2021). Kod više od 95,0 % bakterijskih izolata *P. aeruginosa* utvrđena je osjetljivost na amikacin, gentamicin te ciprofloksacin. Na marbofloksacin je bilo osjetljivo 85,3 % sojeva. Slični rezultati objavljeni su i u ranijim istraživanjima (Petersen i sur., 2002., Authier i sur., 2006., Pedersen i sur., 2007., Awosile i sur., 2018.). Nielsen i sur. (2021.) su, kao članovi EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW), preporučili uporabu aminoglikozida i fluorokinolona upravo za liječenje IUT prouzročениh s *P. aeruginosa*. Problem jest što su ovi lijekovi nefrotoksični, moraju se davati parenteralno svakog dana te im se aktivnost smanjuje padom pH urina (Giguère i sur., 2013.).

Kod gram-pozitivnih bakterija, uzročnika IUT pasa, osjetljivost na amiksicilin/klavulansku kiselinu te cefalosporine kod KoPSt iznosila je 100,0 %, dok je kod beta-hemolitičnih *Streptococcus* sp. ona bila preko 96,0 %.

Kod više od 90,0 % izolata KoPSt utvrđena je osjetljivost na fluorokinolone i amikacin, dok je kod beta-hemolitičnih *Streptococcus* sp. na navedene antimikrobne lijekove osjetljivost bila izrazito niska. Između 72,0 % i 82,0 % izolata obje bakterijske vrste bilo je osjetljivo na trimetoprim/sulfametoksazol, azitromicin i kloramfenikol. Dobiveni rezultati u potpunosti odgovaraju ranijim publikacijama (Biedenbach i sur., 2006., Awosile i sur., 2018.,

Conner i sur., 2018., Aurich i sur., 2022.). Velika osjetljivost bakterijskih izolata beta-hemolitičnih *Streptococcus* sp. uočena je i na penicilin i ampicilin, dok je samo 10,6 %, odnosno 16,7 % izolata KoPSt bilo je osjetljivo na penicilin, odnosno ampicilin. Iz ovog razloga, ta dva lijeka se, kao lijekovi prvog izbora u liječenju UTI pasa, ne preporučuju za liječenje stafilokoknih infekcija u pasa (Kadlec i Schwarz, 2012., Couto i sur., 2016.).

IUT prouzročene bakterijskim rodom *Enterococcus* sp. predstavljaju jedan od najvećih problema prilikom empirijske terapije iz razloga što se uglavnom radi o multiplo rezistentnim sojevima. Razlog tomu jest što bakterije ovog roda imaju urođenu antimikrobnu rezistenciju na cefalosporine, aminoglikozide, klindamicin i trimetoprim/sulfametoksazol. Iako se *in vitro* na navedene antimikrobne tvari može utvrditi određeni postotak osjetljivih sojeva, one su klinički neučinkovite (M100 S31, 2021). Problem postaje još i veći kada se uzme u obzir činjenica da kod ovog bakterijskog roda vrlo često dolazi i do pojave stečene rezistencije (Delgado i sur., 2007.). Ipak, kod bakterija ovog roda još uvijek postoji određena osjetljivost na ampicilin i amiksicilin/klavulansku kiselinu (70,0%-80,0%), što je potvrđeno i u ranijim istraživanjima (Delgado i sur., 2007., Jackson i sur., 2009., Aurich i sur., 2022.). U ovom istraživanju, 75,3% bakterija roda *Enterococcus* sp. pripadalo je vrsti *E. faecalis*. Ovako veliki postotak posljedica je sposobnosti ove bakterijske vrste da tvori biofilm te je na taj način otporna na ispiranje urinom, endogenu obranu organizma te antimikrobno djelovanje (Wood i sur., 2020., Hashem i sur., 2021., Stępień-Pyśniak i sur., 2021.). Tijekom 11 godina iz uzoraka urina pasa izdvojeno je 47 izolata MRKoPSt, što predstavlja 14,3 % ukupno izdvojenih KoPSt. Broj ovakvih izolata povećava se iz godine u godinu. Kod MR-

KoPSt zamjećena je velika rezistencija na sve antimikrobne lijekove osim amikacina i kloramfenikola. Ukoliko životinja ne reagira na početnu antimikrobnu terapiju, a postoji sumnja da je infekcija uzrokovana KoPSt, obvezno treba napraviti bakteriološku pretragu i ispitivanje osjetljivosti izdvojene bakterije na antimikrobne lijekove, upravo zbog velikog rizika da je infekcija prouzročena MRKoPSt (Van Duijkeren i sur., 2011.).

Ovo istraživanje dalo je informacije o antimikrobnoj osjetljivosti i kretanju antimikrobne rezistencije najčešćih bakterijskih uzročnika IUT pasa u Republici Hrvatskoj, u razdoblju od 2012.-2022. godine. Ovi rezultati pomoći će pri empirijskom odabiru antimikrobnih lijekova za terapiju IUT pasa te podizanju svijesti o razumnoj uporabi antimikrobnih lijekova.

Literatura

1. AMPHAIPHAN, C., T. YANO, M. SOMIN, P. KUNGWONG, K. WONGSAWAN, R. PUSOONTHORNTHUM, M. D. SALMAN and S. TANGTRONGSUP (2021): Antimicrobial drug resistance profile of isolated bacteria in dogs and cats with urologic problems at Chiang Mai University Veterinary Teaching Hospital, Thailand (2012-2016). *Zoonoses Public Health* 68, 452-463. 10.1111/zph.12832
2. AURICH, S., E. PRENGER-BERNINGHOFF and C. EWERS (2022): Prevalence and Antimicrobial Resistance of Bacterial Uropathogens Isolated from Dogs and Cats. *Antibiotics* (Basel, Switzerland) 11, 1730. 10.3390/antibiotics11121730
3. AUTHIER, S., D. PAQUETTE, O. LABRECQUE and S. MESSIER (2006): Comparison of susceptibility to antimicrobials of bacterial isolates from companion animals in a veterinary diagnostic laboratory in Canada between 2 time points 10 years apart. *Can. Vet. J.* 47, 774-778.
4. AWOSILE, B. B., J. T. McCLURE, M. E. SAAB and L. C. HEIDER (2018): Antimicrobial resistance in bacteria isolated from cats and dogs from the Atlantic Provinces, Canada from 1994-2013. *Can. Vet. J.* 59, 885-893.
5. BALL, K. R., J. E. RUBIN, M. CHIRINO-TREJO and P. M. DOWLING (2008): Antimicrobial resistance and prevalence of canine uropathogens at the Western College of Veterinary Medicine Veterinary Teaching Hospital, 2002-2007. *Can. Vet. J.* 49, 985-990.
6. BARTGES J. W. (2004): Diagnosis of urinary tract infections. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 34, 923-933. 10.1016/j.cvsm.2004.03.001
7. BIEDENBACH, D. J., M. A. TOLEMAN, T. R. WALSH and R. N. JONES (2006): Characterization of fluoroquinolone-resistant b-hemolytic *Streptococcus* spp. isolated in North America and Europe including the first report of fluoroquinolone-resistant *Streptococcus dysgalactiae* subspecies equisimilis: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2004). *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 55, 119-127. 10.1016/j.diagmicrobio.2005.12.006
8. BYRON, J. K. (2019): Urinary Tract Infection. *Vet. Clin. North Am. Small. Anim. Pract.* 49, 211-221. 10.1016/j.cvsm.2018.11.005
9. BUCKLAND, E. L., D. O'NEILL, J. SUMMERS, A. MATEUS, D. CHURCH, L. REDMOND and D. BRODBELT (2016): Characterisation of antimicrobial usage in cats and dogs attending UK primary care companion animal veterinary practices. *Vet. Rec.* 179, 489. 10.1136/vr.103830
10. BURKE, S., V. BLACK, F. SÁNCHEZ-VIZCAÍNO, A. RADFORD, A. HIBBERT and S. TASKER (2017): Use of cefovecin in a UK population of cats attending first-opinion practices as recorded in electronic health records. *J. Feline Med. Surg.* 19, 687-692.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (2008): M31-A3 Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals; Approved Standard - Third Edition. 10.1177/1098612X16656706
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (2013): VET01-A4 Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals; Approved Standard-Fourth Edition.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (2013): VET01 S2 Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals- Second Edition.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute (2015): VET01S Ed3 Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals- Third Edition.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (2018): VET01 Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals, 5th Edition.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute (2018): VET08-Ed4 Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals - Fourth Edition.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute (2020): VET01S Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals, Fifth Edition.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (2012): M100 S22 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Twenty-Second International Supplement.

19. Clinical and Laboratory Standards Institute (2021): M100 S31 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Thirty-first edition.
20. COHN, L. A., A. T. GARY, W. H. FALES and R. W. MADSEN (2003). Trends in fluoroquinolone resistance of bacteria isolated from canine urinary tracts. *J. Vet. Diagn. Invest.* 15, 338-343. 10.1177/104063870301500406
21. CONNER, J. G., J. SMITH, E. EROL, S. LOCKE, E. PHILLIPS, C. N. CARTER and A. ODOI (2018): Temporal trends and predictors of antimicrobial resistance among *Staphylococcus* spp. isolated from canine specimens submitted to a diagnostic laboratory. *PLoS One.* 13(8): e0200719. 10.1371/journal.pone.0200719.
22. COOKE, C. L., R. S. SINGER, S. S. JANG and D. C. HIRSH (2002): Enrofloxacin resistance in *Escherichia coli* isolated from dogs with urinary tract infections. *J. Am. Vet. Med.* 220, 190-192. 10.2460/javma.2002.220.190
23. COUTO, N., C. MONCHIQUE, A. BELAS, C. MARQUES, L. T. GAMA and C. POMBA (2016): Trends and molecular mechanisms of antimicrobial resistance in clinical staphylococci isolated from companion animals over a 16 year period. *J. Antimicrob. Chemother.* 71, 1479-1487. 10.1093/jac/dkw029
24. CUMMINGS, K. J., V. A. APREA and C. ALTIER (2015): Antimicrobial resistance trends among canine *Escherichia coli* isolates obtained from clinical samples in the northeastern USA, 2004-2011. *Can. Vet. J.* 56, 393-398. 10.1089/fpd.2013.1605
25. DE BRIYNE, N., J. ATKINSON, L. POKLUDOVÁ and S. P. BORRIELLO (2014): Antibiotics used most commonly to treat animals in Europe. *Vet. Rec.* 175, 325. 10.1136/vr.102462
26. DELGADO, M., I. NETO, J. H. D. CORREIA and C. POMBA (2007): Antimicrobial resistance and evaluation of susceptibility testing among pathogenic enterococci isolated from dogs and cats. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 30, 98-100. 10.1016/j.ijantimicag.2007.03.007
27. DIERIKX, C. M., E. VAN DUJKEREN, A. H. SCHOORMANS, A. VAN ESSEN-ZANDBERGEN, K. VELDMAN, A. KANT, X. W. HUIJSDENS, K. VAN DER ZWALUW, J. A. WAGENAAR and D. J. MEVIUS (2012): Occurrence and characteristics of extended-spectrum-beta-lactamase- and AmpC-producing clinical isolates derived from companion animals and horses. *J. Antimicrob. Chemother.* 67, 1368-1374. 10.1093/jac/dks049
28. EKAKORO, J. E., G. K. HENDRIX, L. F. GUPTILL and A. RUPLE (2022): Antimicrobial susceptibility and risk factors for resistance among *Escherichia coli* isolated from canine specimens submitted to a diagnostic laboratory in Indiana, 2010-2019. *PLoS One.* 17(8), e0263949. 10.1371/journal.pone.0263949
29. EWERS, C., M. GROBBEL, A. BETHE, L. H. WIELER and S. GUENTHER (2011): Extended-spectrum beta-lactamases-producing gram-negative bacteria in companion animals: action is clearly warranted! *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 124, 94-101.
30. GIGUÈRE S., J. F. PRESCOTT and P. M. DOWLING (2013): *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*, 5th ed.: Wiley Blackwell. 10.1002/9781118675014
31. GIBSON, J. S., J. M. MORTON, R. N. COBBOLD, H. E. SIDJABAT, L. J. FILIPPICH and D. J. TROTT (2008): Multidrug-resistant *E. coli* and enterobacter extraintestinal infection in 37 dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 22, 844-850. 10.1111/j.1939-1676.2008.00124.x
32. GÓMEZ-POVEDA, B. and M. A. MORENO (2018): Antimicrobial Prescriptions for Dogs in the Capital of Spain. *Front. Vet. Sci.* 5, 309. 10.3389/fvets.2018.00309.
33. GUARDABASSI, L., S. SCHWARZ and D. H. LLOYD (2004): Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.* 54, 321-332. 10.1093/jac/dkh332
34. HALL, J. L., M. A. HOLMES and S. J. BAINES (2013): Prevalence and antimicrobial resistance of canine urinary tract pathogens. *Vet. Rec.* 173, 549. 10.1136/vr.101482
35. HARIHARAN, H., E. BRATHWAITE-SYLVESTER, V. M. BELMAR and R. SHARMA (2016): Bacterial isolates from urinary tract infection in dogs in Grenada, and their antibiotic susceptibility. *Open J. Vet. Med.* 6, 85-88. 10.4236/ojvm.2016.66010
36. HASHEM, Y. A., K. A. ABDELRAHMAN and R. K. AZIZ (2021): Phenotype-genotype correlations and distribution of key virulence factors in *Enterococcus faecalis* isolated from patients with urinary tract infections. *Infect. Drug Resist.* 14, 1713-1723. 10.2147/IDR.S305167
37. JACKSON, C. R., P. J. FEDORKA-CRAY, J. A. DAVIS, J. B. BARRETT and J. G. FRYE (2009): Prevalence, species distribution and antimicrobial resistance of enterococci isolated from dogs and cats in the United States. *J. Appl. Microbiol.* 107, 1269-1278. 10.1111/j.1365-2672.2009.04310.x
38. JOHNSON, J. R., N. KASTER, M. A. KUSKOWSKI and G. V. LING (2003): Identification of urovirulence traits in *Escherichia coli* by comparison of urinary and rectal *E. coli* isolates from dogs with urinary tract infection. *J. Clin. Microbiol.* 41, 337-345. 10.1128/JCM.41.1.337-345.2003
39. KADLEC, K. and S. SCHWARZ (2012): Antimicrobial resistance of *Staphylococcus pseudintermedius*. *Vet. Dermatol.* 23, 276-283. 10.1111/j.1365-3164.2012.01056.x
40. LING, G. V. (1984): Therapeutic strategies involving antimicrobial treatment of the canine urinary tract. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 185, 1162-1164.
41. LING, G. V., C. R. NORRIS, C. E. FRANTL, P. H. EISELE, D. L. JOHNSON, A. L. RUBY and S. S. JANG (2001): Interrelations of organism prevalence, specimen collection method, and host age, sex and breed among 8354 canine urinary tract infections (1969-1995). *JVIM* 15, 341-347. 10.1111/j.1939-1676.2001.tb02327.x

42. LOW, D. A., B. A. BRAATEN, G. V. LING, D. L. JOHNSON and A. L. RUBY (1988): Isolation and comparison of *Escherichia coli* strains from canine and human patients with urinary tract infections. *Infect Immun.* 56, 2601-2609. 10.1128/iai.56.10.2601-2609.1988
43. MARQUES, C., A. BELAS, A. FRANCO, C. ABOIM, L. T. GAMA and C. POMBA (2018): Increase in antimicrobial resistance and emergence of major international high-risk clonal lineages in dogs and cats with urinary tract infection: 16 year retrospective study. *JAC* 73, 377-384. 10.1093/jac/dkx401
44. MARQUES, C., L. T. GAMA, A. BELAS et al. (2016): European multicenter study on antimicrobial resistance in bacteria isolated from companion animal urinary tract infections. *BMC Vet. Res.* 12, 213. 10.1186/s12917-016-0840-3
45. McMEEKIN, C. H., K. E. HILL, I. R. GIBSON, J. P. BRIDGES and J. BENSCHOP (2017): Antimicrobial resistance patterns of bacteria isolated from canine urinary samples submitted to a New Zealand veterinary diagnostic laboratory between 2005-2012. *NZVJ* 65, 99-104. 10.1080/00480169.2016.1259594
46. MOYAERT, H., I. MORRISSEY, A. DE JONG, F. EL GARCH, U. KLEIN, C. LUDWIG, J. THIRY and M. YOUALA (2017): Antimicrobial susceptibility monitoring of bacterial pathogens isolated from urinary tract infections in dogs and cats across Europe: Com path results. *Microb. Drug Resist.* 23, 391-403. 10.1089/mdr.2016.0110
47. National Committee for Clinical Standards (2002): M31-A2 Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard - Second Edition
48. NIELSEN S. S., D. J. BICOUD, P. CALISTRI et al. (2021): Assessment of animal diseases caused by bacteria resistant to antimicrobials: Dogs and cats. *EFSA J.* 28, 19(6):e06680. 10.2903/j.efsa.2021.6680.
49. NORMAND, E. H., N. R. GIBSON, S. CARMICHAEL, S. W. J. REID and D. J. TAYLOR (2000): Trends of antimicrobial resistance in bacterial isolates from a small animal referral hospital. *Vet. Rec.* 146, 151-155. 10.1136/vr.146.6.151
50. NORRIS, C. R., B. J. WILLIAMS, G. V. LING, C. E. FRANTI, D. L. JOHNSON and A. L. RUBY (2000): Recurrent and persistent urinary tract infections in dogs: 383 cases (1969-1995). *JAAHA* 36, 484-492. 10.5326/15473317-36-6-484
51. PEDERSEN, K., K. PEDERSEN, H. JENSEN, K. FINSTER, V. F. JENSEN and O. E. HEUER (2007): Occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from diagnostic samples from dogs. *J. Antimicrob. Chemother.* 60, 775-781. 10.1093/jac/dkm269
52. PETERSEN, A. D., R. D. WALKER, M. M. BOWMAN, H. C. SCHOTT and E. J. ROSSER (2002): Frequency of isolation and antimicrobial susceptibility patterns of *Staphylococcus intermedius* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from canine skin and ear samples over a 6-year period (1992-1997). *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 38, 407-413. 10.5326/0380407
53. PRESCOTT, J. F., W. J. B. HANNA, R. REID-SMITH and K. DROST (2002): Antimicrobial drug use and resistance in dogs. *Can. Vet. J.* 43, 107-116.
54. RZEWUSKA, M., M. CZOPOWICZ, M. KIZERWETTER-SWIDA, D. CHROBAK, B. BŁASZCZAK and M. BINEK (2015): Multidrug resistance in *Escherichia coli* strains isolated from infections in dogs and cats in Poland (2007-2013). *Sci. World J.* 2015, 1-8. 10.1155/2015/408205
55. SINGLETON, D. A., F. SÁNCHEZ-VIZCAÍNO, E. ARSEVSKA, S. DAWSON, P. H. JONES, P. J. M. NOBLE, G. L. PINCHBECK, N. J. WILLIAMS and A. D. RADFORD (2018): New approaches to pharmaco-surveillance for monitoring prescription frequency, diversity, and co-prescription in a large sentinel network of companion animal veterinary practices in the United Kingdom, 2014-2016. *Prev. Vet. Med.* 159, 153-161. 10.1016/j.prevetmed.2018.09.004
56. SMOGLICA, C., G. EVANGELISTI, C. FANI, F. MARSILIO, M. TROTTA, F. MESSINA, C. E. DI FRANCESCO (2022): Antimicrobial Resistance Profile of Bacterial Isolates from Urinary Tract Infections in Companion Animals in Central Italy. *Antibiotics* 11, 1363. 10.3390/antibiotics11101363.
57. STEPIEŃ-PYŚNIAK, D., F. BERTELLONI, M. DEC, G. CAGNOLI, D. PIETRAS-OŻGA, R. URBAN-CHMIEL and V. V. EBANI (2021): Characterization and Comparison of *Enterococcus* spp. Isolates from Feces of Healthy Dogs and Urine of Dogs with UTIs. *Animals* 11, 2845. 10.3390/ani11102845.
58. THOMPSON, M. F., A. L. LITSTER, J. L. PLATELL and D. J. TROTT (2011): Canine bacterial urinary tract infections: new developments in old pathogens. *Vet. J.* 190, 22-27. 10.1016/j.tvjl.2010.11.013
59. THOMSEN, M. K., L. C. SVANE and P. H. POULSEN (1986): Canine urinary tract infections. Detection, prevalence and therapeutic consequences of bacteriuria. *Nord. Vet. Med.* 38, 394-402.
60. QEKWANA, D. N., L. PHOPHI, V. NAIDOO, J. W. OGUTTU and A. ODOI (2018): Antimicrobial resistance among *Escherichia coli* isolates from dogs presented with urinary tract infections at a veterinary teaching hospital in South Africa. *BMC Vet. Res.* 31, 228. 10.1186/s12917-018-1552-7.
61. VAN CLEVEN, A., S. SARRAZIN, H. DE ROOSTER, D. PAEPE, S. VAN DER MEEREN and J. DEWULF (2018): Antimicrobial prescribing behaviour in dogs and cats by Belgian veterinarians. *Vet. Rec.* 182, 324. 10.1136/vr.104316
62. VAN DUJKEREN, E., B. CATRY, C. GREKO, M. A. MORENO, M. C. POMBA, S. PYÖRÄLÄ, M. RUZAUSKAS, P. SANDERS, E. J. THRELFALL, J. TORREN-EDO, K. TÖRNEKE and SCIENTIFIC ADVISORY GROUP ON ANTIMICROBIALS (SAGAM) (2011): Review on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *J. Antimicrob. Chemother.* 66, 2705-2714. 10.1093/jac/dkr367

63. WEESE, J. S., J. BLONDEAU, D. BOOTHE, L. G. GUARDABASSI, N. GUMLEY, M. PAPICH, L. R. JESSEN, M. LAPPIN, S. RANKIN, J. L. WESTROPP and J. SYKES (2019): International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID) guidelines for the diagnosis and management of bacterial urinary tract infections in dogs and cats. *Vet. J.* 247, 8-25. 10.1016/j.tvjl.2019.02.008
64. WINDAHL, U., B. S. HOLST, A. NYMAN, U. GRÖNLUND and B. BENGTTSSON (2014): Characterisation of bacterial growth and antimicrobial susceptibility patterns in canine urinary tract infections. *BMC Vet. Res.* 10, 217. 10.1186/s12917-014-0217-4
65. WONG, C. S. E. EPSTEIN and J. L. WESTROPP (2015): Antimicrobial Susceptibility Patterns in Urinary Tract Infections in Dogs (2010-2013). *J. Vet. Intern. Med.* 29, 1045-1052. 10.1111/jvim.13571
66. WOOD, M. W. A. LEPOLD, D. TESFAMICHAEL and M. R. LASAREV (2020): Risk factors for enterococcal bacteriuria in dogs: A retrospective study. *J. Vet. Intern. Med.* 34, 2447-2453. 10.1111/jvim.15916
67. WORLD HEALTH ORGANIZATION (2018): Critically Important Antimicrobials for Human Medicine, 6th ed.; World Health Organization: Geneva, Switzerland; ISBN 978-92-4-151552-8.
68. YU, Z., Y. WANG, Y. CHEN, M. HUANG, Y. WANG, Z. SHEN, Z. XIA, and G. LI (2020): Antimicrobial resistance of bacterial pathogens isolated from canine urinary tract infections. *Vet. Microbiol.* 241, 108540. 10.1016/j.vetmic.2019.108540. 10.1016/j.vetmic.2019.108540

Antimicrobial susceptibility and trends in antimicrobial resistance of bacterial pathogens isolated from dogs urinary tract infection in Croatia from 2012-2022

Gordan KOMPES, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Boris HABRUN, DVM, PhD, Scientific Advisor in Tenure, Associate Professor, Antonela BAGARIĆ, DVM, Assistant, Miroslav BENIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor in Tenure, Assistant Professor, Luka CVETNIĆ, DVM, PhD, Scientific Associate, Silvio ŠPIČIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor in Tenure, Sanja DUVNJAK, Mag. Biol. Mol., PhD, Senior Scientific Associate, Irena REIL, DVM, PhD, Scientific Associate, Maja ZDELAR-TUK, DVM, PhD, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia; Željko CVETNIĆ, DVM, PhD, Academician, Croatian Veterinary Institute – Branch - Veterinary Institute Križevci, Croatia; Branka ŠEOL MARTINEC, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Croatia

Bacterial urinary tract infections (UTIs) occur commonly in dogs. Increase of bacterial resistance and using critically-important antimicrobials, especially in UTIs in dogs, concern because of emergence of multidrug resistant bacterial strains. The objectives of this study were to investigate prevalence and antimicrobial resistance of most frequently isolated bacterial isolates causing UTIs in dogs, and to show trends of antimicrobial resistance during 11 year period in Croatia. A total of 2721 dog urine samples were analysed and 1363 were positive for bacterial growth (50.1%). *Escherichia coli* was the most frequently isolated organism (47.3%), followed by coagulase positive *Staphylococcus* sp. (20.7%), *Proteus* sp. (14.7%), *Enterococcus* sp. (13.6%), beta-hemolytic *Streptococcus* sp. (11.7%), *Pseudomonas aeruginosa* (4.5%) and methicillin resistant coagulase positive *Staphylococcus* sp. (3.4%). In Gram-negative bacteria the susceptibility rates were high for gentamicin, amikacin (77.9%-97.3%), marbofloxacin and ciprofloxacin (69.7%-98.4%). High susceptibility rates in *Proteus* sp. to beta-lactams (70.5%-86.7%) and in *Escherichia coli* to chloramphenicol (73.3%) and trimethoprim/sulfamethoxazole (72,7%) were no-

ticed. In coagulase positive *Staphylococcus* sp. only few isolates were susceptible to penicillin (10.6%) and ampicillin (16.7%), followed by streptomycin, neomycin and tetracyclines (56.0%-66.0%). In beta-hemolytic *Streptococcus* sp. the lowest susceptibility rates were found for aminoglycosides, tetracyclines (8.2%-31.9%) and fluoroquinolones (31.5%-61.6%). *Enterococcus* sp. isolates showed highest susceptibility to amoxicillin/clavulanic acid (78.0%) and ampicillin (70.4%). Amikacin and chloramphenicol, with susceptibility rate of 89.3% and 80.9%, were the only drugs effective against methicillin resistant coagulase positive *Staphylococcus* sp. Trends during eleven years of investigation period showed increase of resistance in *Escherichia coli* and *Proteus* sp. to fluoroquinolones, ampicillin and amoxicillin/clavulanic acid, while in *Escherichia coli* increase of resistance to cephalosporins was also noticed. These results will help in drug selection for empirical treatment of UTIs in dogs and raising awareness of reasonable use of antimicrobials.

Key words: antimicrobial resistance; IUT; dogs; antimicrobial; sensitivity