

UNIVERZA V LJUBLJANI
VETERINARSKA FAKULTETA

**VPLIV NAČINA PORODA NA MIKROBIOTO
PRI PASJIH NOVOROJENCIH**

**IMPACT OF PARTURITION TYPE ON MICROBIOTA
OF NEWBORN PUPPIES**

Anja Kalin in Leonida Kajdič

Ljubljana, 2019

UNIVERZA V LJUBLJANI
VETERINARSKA FAKULTETA

UDK 618.2:636.7.038.14:636-082.456:616-036.8:579.62(043.2)

**VPLIV NAČINA PORODA NA MIKROBIOTO
PRI PASJIH NOVOROJENCIH**

**IMPACT OF PARTURITION TYPE ON MICROBIOTA
OF NEWBORN PUPPIES**

Anja Kalin in Leonida Kajdič

Delo je pripravljeno v skladu s Pravilnikom o podeljevanju Prešernovih nagrad študentom, pod mentorstvom izr. prof. Irene Zdovc, dr. vet. med., in somentorstvom asist. dr. Maje Zakošek Pipan, dr. vet. med., na Inštitutu za mikrobiologijo in parazitologijo, na Kliniki za male živali in Kliniki za reprodukcijo Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani.

Ljubljana, 2019

POVZETEK

Ključne besede: Porodništvo – veterinarsko; porod – metode; carski rez; novorojenci – rast in razvoj – mikrobiologija; ocena po Apgarjevi; preživetje; psi – fiziologija

V raziskovalnem delu smo ugotavljali vpliv načina poroda na mikrobioto novorojenih psov in posledično na njihov prirast ter preživetje v prvih tednih življenja. Obravnavali smo 96 mladičev, ki so se skotili 17 psicam. Glede na tip poroda smo mladiče razdelili v dve oziroma tri skupine: vaginalni porod in elektivni ter urgentni carski rez. Pri mladičih smo po porodu odvzeli brise posteljic in mekonijev, opravili modificirano oceno po Apgarjevi ter oceno refleksov. Pri materah smo na polovici brejosti in ob porodu odvzeli brise ustne sluznice in vaginalne brise. Iz brisov smo s postopkom klasične bakteriološke preiskave izolirali številne vrste aerobnih in anaerobnih bakterij, ki smo jih identificirali s pomočjo masne spektrometrije (MALDI-TOF MS). Prvih sedem dni življenja mladičev smo spremljali njihov prirast in ugotavljali povezavo z morebitno prisotno mikrobioto. V prvih sedmih dneh življenja smo ugotovili statistično značilno razliko med relativnim prirastom mladičev, ki so bili skoteni z vaginalnim porodom in s carskim rezom. Najbolje so priraščali mladiči, ki so se skotili z vaginalnim porodom, najslabše pa tisti, ki so se skotili z elektivnim carskim rezom. Relativni prirast smo spremljali do osmega tedna starosti, vendar kasneje ni bilo več opaziti statistično značilnih razlik v relativnem prirastu. Mladiči, ki so se skotili z mekonijem brez bakterijske mikrobiote, ne glede na tip poroda, so priraščali počasneje kot mladiči, ki so se skotili z mekonijem z bakterijsko mikrobioto. Prvi in drugi dan nismo zaznali razlik, tretji in četrti dan po porodu pa je bila razlika v relativnem prirastu statistično značilna. Mladiči, ki so se skotili s posteljico brez bakterijske mikrobiote, ne glede na tip poroda, so v prvih dneh življenja priraščali počasneje kot mladiči, ki so se skotili s posteljico z bakterijsko mikrobioto. Mikrobiota mekonija je bila podobna mikrobioti ustne sluznice in sluznice nožnice psic. Glede na bakterijske rodove, ki smo jih izolirali iz 86,5 % mekonijev in 57 % posteljic, lahko sklepamo, da se novorojeni pasji mladiči, ne glede na tip poroda, skotijo z lastno mikrobioto, ki je podobna materini.

SUMMARY

Key words: Obstetrics – veterinary; labor – methods; caesarean section; newborns – growth and development – microbiology; Apgar score; survival rate; dogs – physiology

The aim of our research was to determine whether the type of parturition has any influence on the microbiota of newborn puppies and consequently on their growth and survival in the first weeks of life. The subjects of our study were 96 newborn puppies from 17 bitches. Regarding the type of parturition, the puppies were divided in two or three groups: vaginal parturition, elective and urgent caesarean section. After the puppies were born, we took swabs of the placenta and meconium and evaluated the puppies with a modified Apgar score and we evaluated their reflexes. We took swabs of oral and vaginal mucosa of the mothers in the second half of the pregnancy and just before parturition. The swabs were analyzed with a classical bacteriological examination. We isolated many aerobic and anaerobic bacteria, identified with a mass spectrometry assay (MALDI-TOF MS). We followed the growth of the puppies for the first seven days of their lives and tried to establish whether there is a correlation with the possibly present microbiota. In the first seven days of their lives, we found a statistically significant difference in relative growth rate of the puppies between the puppies born with vaginal parturition and caesarean section. Puppies born with vaginal parturition had the best growth rate while the puppies born with elective caesarean section had the worst growth rate. We followed the growth rate of the puppies until their eight weeks, but later no statistically significant difference was observed. The puppies without a meconium microbiota had slower growth rate than those, which had a meconium microbiota, regardless of the type of parturition. On the first and second days, no differences were observed, but on the third and fourth days after birth, the difference in relative growth was statistically significant. The puppies born with placenta without bacterial microbiota had slower growth rate in the first days of life than those, which had a placenta with bacterial microbiota, regardless of the type of parturition. The meconium microbiota was similar to the microbiota of the oral and vaginal mucosa of their mothers. Based on the bacterial genes that were isolated from 86.5% of meconium and 57% of placenta, we can conclude that newborn puppies are born with their own mother-like microbiota, regardless of the type of parturition.

KAZALO VSEBINE

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1 UVOD | 13 |
| 1.1 OPREDELITEV PROBLEMA..... | 13 |
| 1.2 CILJ RAZISKOVANJA | 13 |
| 1.3 DELOVNE HIPOTEZE | 14 |
| 2 PREGLED LITERATURE..... | 15 |
| 2.1 SPOLNI CIKLUS PSICE | 15 |
| 2.2 OPLODITEV (fertilizacija) | 15 |
| 2.3 RAZVOJ ZARODKA IN NASTANEK POSTELJICE | 16 |
| 2.3.1 Zgodnja embriogeneza (zgodnji razvoj plodu)..... | 16 |
| 2.3.2 Nastanek plodovih ovojnic | 17 |
| 2.3.3 Ugnezditev in nastanek posteljice (implantacija in placentacija)..... | 18 |
| 2.3.4 Posteljica pri psih | 19 |
| 2.4 VAGINALNI POROD | 20 |
| 2.4.1 Sprožilni dejavniki in hormonske spremembe v času poroda | 20 |
| 2.4.2 Faze vaginalnega poroda | 21 |
| 2.4.2.1 <i>Prva faza poroda</i> | 21 |
| 2.4.2.2 <i>Druga faza poroda</i> | 22 |
| 2.4.2.3 <i>Tretja faza poroda</i> | 22 |
| 2.5 TEŽAK POROD (distocija)..... | 22 |
| 2.5.1 Vzroki za distocijo..... | 23 |
| 2.5.2 Prepoznavanje distocije | 23 |
| 2.6 CARSKI REZ | 24 |
| 2.7 VZPOSTAVITEV MIKROBIOMA PRI NOVOROJENCIH..... | 26 |
| 2.7.1 MIKROBIOM | 26 |
| 2.7.2 MIKROBIOM PRI LJUDEH IN POVEZAVE Z NOVOROJENCI | 26 |
| 2.7.2.1 <i>Spremembe v črevesni mikrobioti med nosečnostjo</i> | 27 |
| 2.7.2.2 <i>Spremembe v mikrobioti nožnice med nosečnostjo</i> | 28 |
| 2.7.2.3 <i>Spremembe v mikrobioti ustne votline med nosečnostjo</i> | 28 |
| 2.7.2.4 <i>Mikrobiota posteljice</i> | 29 |
| 2.7.2.5 <i>Mikrobiota mekonija</i> | 32 |
| 2.7.2.6 <i>Disbioza in okužbe v povezavi z zapleti nosečnosti</i> | 35 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.7.3 MIKROBIOM PSOV | 37 |
| 2.7.3.1 <i>Mikrobiota ustne votline psov</i> | 37 |
| 2.8 OCENA PO APGARJEVI..... | 42 |
| 2.9 PRIRAST MLADIČEV IN NJIHOVO PREŽIVETJE V PRVIH TEDNIH ŽIVLJENJA | 45 |
| 2.10 KOLOSTRUM IN NJEGOV POMEN..... | 47 |
| 3 MATERIALI IN METODE | 49 |
| 3.1 MATERIALI | 49 |
| 3.2 METODE..... | 49 |
| 3.2.1 Carski rez..... | 49 |
| 3.2.1.1 <i>Prvi pregled in pregled pred kirurškim posegom</i> | 49 |
| 3.2.1.2 <i>Anestezija</i> | 50 |
| 3.2.1.3 <i>Kirurški poseg</i> | 50 |
| 3.2.2 Vaginalni porod | 51 |
| 3.2.3 Ocenjevanje novorojencev | 52 |
| 3.2.3.1 <i>Ocena po Apgarjevi</i> | 53 |
| 3.2.3.2 <i>Ocenjevanje refleksov</i> | 54 |
| 3.2.4 Zbiranje in ravnanje z vzorci | 54 |
| 3.2.4.1 <i>Bris sluznice nožnice (vaginalni bris)</i> | 54 |
| 3.2.4.2 <i>Bris ustne sluznice (oralni bris)</i> | 55 |
| 3.2.4.3 <i>Vzorci kolostruma</i> | 55 |
| 3.2.4.4 <i>Bris posteljice</i> | 55 |
| 3.2.4.5 <i>Vzorci mekonija</i> | 55 |
| 3.2.5 Izolacija bakterij | 56 |
| 3.2.5.1 <i>Pregled kultur in identifikacija bakterij z masno spektrometrijo</i> | 57 |
| 3.2.6 Analiza podatkov..... | 58 |
| 4 REZULTATI | 59 |
| 4.1 OSNOVNI PODATKI..... | 59 |
| 4.2 OCENA VITALNOSTI – OCENA PO APGARJEVI | 61 |
| 4.2.1 Ocena po Apgarjevi po 5 minutah..... | 61 |
| 4.2.2 Ocena po Apgarjevi po 15 minutah..... | 62 |
| 4.2.3 Ocena po Apgarjevi po 60 minutah..... | 63 |
| 4.2.4 Povezava med oceno po Apgarjevi in tipom poroda..... | 63 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.3 OCENA REFLEKSOV..... | 66 |
| 4.4 IZOLIRANE BAKTERIJE..... | 68 |
| 4.4.1 Osnovni podatki o izoliranih bakterijah | 68 |
| 4.4.2 Izolirane bakterije iz vzorcev mekonija in posteljice | 80 |
| 4.5 PRIMERJAVA MIKROBIOTE MATERE IN MLADIČEV GLEDE NA TIP PORODA | 81 |
| 4.5.1 Povezava med ustno sluznico matere in mekonijem ter posteljico mladičev.... | 82 |
| 4.5.2 Povezava med sluznico nožnice matere in mekonijem ter posteljico mladičev. | 83 |
| 4.5.3 Prevladujoči bakterijski rodovi, izolirani iz vzorcev mekonija in posteljice | 85 |
| 4.6 RELATIVNI PRIRAST..... | 85 |
| 4.6.1 Razlika v relativnem prirastu med novorojenimi samci in samicami | 89 |
| 4.7 PREŽIVETJE MLADIČEV V PRVIH TEDNIH ŽIVLJENJA | 90 |
| 4.8 RELATIVNI PRIRAST IN PRISOTNOST BAKTERIJ | 90 |
| 4.8.1 Povezava med relativnim prirastom pri mladičih z mekonijem brez bakterijske mikrobiote v primerjavi z mladiči, ki so ob rojstvu imeli prisotne bakterije v mekoniju. | 90 |
| 4.8.2 Povezava med relativnim prirastom pri mladičih s posteljico brez bakterijske mikrobiote v primerjavi z mladiči, ki so ob rojstvu imeli prisotne bakterije v posteljici . | 91 |
| 5 RAZPRAVA | 93 |
| 6 SKLEPI | 101 |
| 7 ZAHVALE | 102 |
| 8 LITERATURA | 104 |
| 9 PRILOGE | 104 |
| 9.1 PRILOGA 1 – IZJAVA O SODELOVANJU V RAZISKAVI..... | 116 |
| 9.2 PRILOGA 2 – OBRAZEC ZA DOLOČANJE OCENE APGAR IN REFLEKSOV | |
| 117 | |
| 9.3 PRILOGA 3 – OSNOVNE TABELE, V KATERIH SO BAKTERIJE, KI SMO JIH IZOLIRALI PRI POSAMEZNIH PORODIH..... | 119 |
| 9.4 PRILOGA 4 – TABELE, V KATERIH JE PRDSTAVLJENA ASTOPANOST POSAMEZNIH BAKTERIJSKIH VRST V RAZLIČNIH VZORCIH IN PRI RAZLIČNIH VRSTAH PORODA | 139 |

KAZALO TABEL

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1: Praktična tabela za ocenjevanje po Apgarjevi iz leta 1962 (Butterfield in Covey, 1962)..... | 43 |
| Tabela 2: Modificirana ocena po Apgarjevi za vrednotenje vitalnosti pasjega novorojenca (Veronesi in sod., 2009) | 44 |
| Tabela 3: Ocenjevanje neonatalnih refleksov (Vassalo in sod., 2015)..... | 45 |
| Tabela 4: Število in delež (%) mladičev, ki so bili vključeni v raziskavo glede na velikost in pasmo psice | 60 |
| Tabela 5: Število in delež (%) mladičev glede na tip poroda, spol in preživetje mladičev..... | 61 |
| Tabela 6: Število in delež (%) mladičev glede na oceno refleksov in tip poroda pri 5, 15 in 60 minutah po porodu..... | 67 |
| Tabela 7: Število in delež (%) mladičev, ki so razdeljeni glede na oceno refleksov | 68 |
| Tabela 8: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz brisov ustne sluznice psic..... | 69 |
| Tabela 9: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz brisov sluznice nožnice psic | 71 |
| Tabela 10: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz vzorcev posteljice mladičev | 73 |
| Tabela 11: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz vzorcev mekonija mladičev..... | 77 |
| Tabela 12: Odstotek porodov, pri katerih smo izolirali iste bakterijske vrste pri materi in njenih mladičih | 81 |
| Tabela 13: Odstotek mladičev, pri katerih smo izolirali enake bakterijske vrste iz brisov ustne sluznice in/ali sluznice nožnice ter vzorcev mekonijev in/ali posteljic..... | 82 |
| Tabela 14: Bakterijski rodovi, ki so jim pripadale bakterije, izolirane iz vzorcev posteljice in mekonija mladičev ter brisov ustne sluznice pri materi in povezave med njimi..... | 83 |
| Tabela 15: Bakterijski rodovi, ki so jim pripadale bakterije, izolirane iz vzorcev posteljic in mekonijev mladičev ter brisov sluznice nožnice pri materi in povezave med njimi..... | 84 |
| Tabela 16: Deleži (%) najpogosteje zastopanih bakterijskih rodov, izoliranih iz vzorcev posteljic in mekonijev mladičev | 85 |
| Tabela 17: Povprečja relativnih prirastov mladičev, rojenih s carskim rezom (elektivni in urgentni CR) in z vaginalnim porodom v prvih sedmih dneh po porodu..... | 86 |

KAZALO SLIK

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Slika 1: Pasja posteljica (Kalin, 2018) | 19 |
| Slika 2: Carski rez (Kajdič, 2017) | 26 |
| Slika 3: Kultura <i>E. coli</i> na krvnem agarju (Zdovc, 2017) | 35 |
| Slika 4: Kultura <i>S. aureus</i> na krvnem agarju (Zdovc, 2017)..... | 42 |
| Slika 5: Dobra vizualizacija maternice za hitro odstranitev plodov (Zakošek Pipan, 2017).... | 51 |
| Slika 6: Primerno označeno mladiči (Kajdič, 2017)..... | 52 |
| Slika 7: Določanje barve ustne sluznice (Zakošek Pipan, 2018)..... | 53 |
| Slika 8: Stimulacija perinealne regije s krožnimi gibi za pridobitev vzorca mekonija (Zakošek Pipan, 2018)..... | 56 |
| Slika 9: Primarna kultura oralnega brisa; sajeno na krvni agar v anaerobnih pogojih (Kalin, 2018)..... | 57 |
| Slika 10: Čista kultura bakterijskih kolonij po presajanju (Kajdič, 2017) | 58 |
| Slika 11: Primerjava števila točk ocene po Apgarjevi po 5 minutah med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom | 62 |
| Slika 12: Primerjava števila točk ocene po Apgarjevi po 5 minutah med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom | 63 |
| Slika 13: Delež (%) mladičev glede na tip poroda in razred Apgar po 5 minutah..... | 64 |
| Slika 14: Delež (%) mladičev glede na tip poroda in razred Apgar po 15 minutah..... | 65 |
| Slika 15: Delež (%) mladičev glede na tip poroda in Apgar razred po 60 minutah | 65 |
| Slika 16: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz brisov ustne sluznice psic | 70 |
| Slika 17: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz brisov sluznice nožnice psic | 72 |
| Slika 18: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz vzorcev posteljice mladičev pri vaginalnih porodih..... | 74 |
| Slika 19: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz vzorcev posteljice mladičev pri elektivnih carskih rezih..... | 75 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Slika 20: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz vzorcev posteljice mladičev pri urgentnih carskih rezih..... | 76 |
| Slika 21: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz vzorcev mekonijev mladičev pri vaginalnih porodih..... | 78 |
| Slika 22: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz vzorcev mekonijev mladičev pri elektivnih carskih rezih..... | 79 |
| Slika 23: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz vzorcev mekonijev mladičev pri urgentnih carskih rezih..... | 80 |
| Slika 24: Relativni prirasti mladičev v prvem tednu (s črtami so prikazana povprečja glede na tip poroda) | 86 |
| Slika 25: Primerjava relativnega prirasta mladičev na drugi dan med mladiči, ki so bili skoteni s carskim rezom in z vaginalnim porodom..... | 87 |
| Slika 26: Primerjava relativnega prirasta mladičev na tretji dan med mladiči, ki so bili skoteni s carskim rezom in z vaginalnim porodom..... | 88 |
| Slika 27: Primerjava relativnega prirasta mladičev na četrти dan med mladiči, ki so bili skoteni s carskim rezom in z vaginalnim porodom..... | 89 |
| Slika 28: Primerjava relativnega prirasta mladičev na tretji dan med mladiči, ki so ob rojstvu imeli v mekoniju prisotne bakterijske kulture, in mladiči, pri katerih je bil mekonij brez bakterijske mikrobiote | 90 |
| Slika 29: Primerjava relativnega prirasta mladičev na četrти dan med mladiči, ki so ob rojstvu imeli v mekoniju prisotne bakterijske kulture, in mladiči, pri katerih je bil mekonij brez bakterijske mikrobiote | 91 |
| Slika 30: Primerjava relativnega prirasta mladičev na drugi dan med mladiči, ki so ob rojstvu imeli v posteljici prisotne bakterijske kulture, in mladiči, pri katerih je bila posteljica brez bakterijske mikrobiote | 92 |

SEZNAM OKRAJŠAV IN SIMBOLOV

| | |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 16S RNK | 16S ribosomska RNK |
| CAPs | različne snovi, ki sprožijo porod (angl. capable of activating the onset of parturition) |
| COX-2 | ciklooksigenaza 2 |
| CR | carski rez |
| DNK | dezoksiribonukleinska kislina |
| EGF | epidermalni rastni faktor (angl. epidermal growth factor) |
| IE | internacionalna enota |
| Ig | imunoglobulin |
| IGFs | inzulinu podobni rastni faktorji (angl. insulin-like growth factors) |
| LH | luteinizirajoči hormon |
| MALDI-TOF MS | masna spektrometrija na osnovi ionizacije v matriksu z lasersko desorpcijo v kombinaciji z analizatorjem časa potovanja (angl. matrix assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry) |
| NGV | živčni rastni faktor (angl. nerve growth factor) |
| PCR | verižna reakcija s polimerazo (angl. polymerase chain reaction) |
| PGF _{2α} | prostaglandin F _{2α} |
| PGFM | metabolit PGF _{2α} |
| RNK | ribonukleinska kislina (angl. ribonucleic acid) |
| ZP1 | protein cone pelucide, ki veže semenčico 1 (angl. zona pellucida sperm-binding protein 1) |
| ZP2 | protein cone pelucide, ki veže semenčico 2 (angl. zona pellucida sperm-binding protein 2) |
| ZP3 | protein cone pelucide, ki veže semenčico 3 (angl. zona pellucida sperm-binding protein 3) |

1 UVOD

1.1 OPREDELITEV PROBLEMA

Neonatalogija je veda medicine, ki se ukvarja z novorojenci, njihovo oskrbo, razvojem in boleznimi. V humani medicini neonatalno obdobje obsega prve štiri tedne življenja in hkrati predstavlja najbolj kritično obdobje v življenju človeka (Lawn in sod., 2005).

Pri psih in mačkah neonatalno obdobje ni natančno definirano, vendar se večina veterinarskih pediatrov strinja, da govorimo o prvih dveh do treh tednih življenja (Tønnessen in sod., 2012). Mladiči se skotijo fiziološko nezreli in so popolnoma odvisni od matere in njene oskrbe (Münnich, 2008).

Novejše raziskave pri ljudeh so pokazale, da se novorojenci rodijo z lastno mikrobioto. Tako posteljica kot tudi črevesje novorojenega otroka nista sterilni, ampak vsebujeta posamezne bakterije (Pérez-Muñoz in sod., 2017; Aagard in sod., 2014; Jiménez in sod., 2008; Collado in sod., 2008; Wassenaar in Panigrahi, 2014). Mikrobiota posteljice pri otrocih je zelo podobna mikrobioti ustne votline pri materi, nekateri avtorji pa so ugotovili podobnost tudi z mikrobioto nožnice in črevesja (Collado in sod., 2016; Fardini in sod., 2010; Han in sod., 2006; Han in sod., 2010; Han in sod., 2009; Aagaard in sod., 2014; Parnell in sod., 2017). Prenos bakterij iz matere na potomce so potrdili pri miših (Jimenez in sod., 2008). Prav tako so bakterije našli v amnijski tekočini, mekoniju telet in v maternici brejih krav (Hemberg in sod., 2015; Mayer in sod., 2012; Karstrup in sod., 2017). Pri psih še ni raziskano, ali se mladiči skotijo z bakterijsko mikrobioto ali brez nje. Ker imajo psi manj prepustno posteljico kot ljudje, bi to lahko vplivalo tudi na prisotnost bakterij v njej in posledično v mekoniju mladičev.

1.2 CILJ RAZISKOVANJA

Cilj raziskovalne naloge je bil raziskati, ali se novorojeni psi skotijo z bakterijsko mikrobioto, in ugotoviti, kakšna je povezava med morebitno prisotno mikrobioto mladiča in mikrobioto matere ter ali se mikrobiota mladičev razlikuje glede na tip poroda (vaginalni porod ali carski rez). V raziskovalni nalogi smo proučevali tudi, ali tip poroda vpliva na mikrobioto mladičev, na njihovo priraščanje, njihov razvoj in preživetje v prvih 60 dneh življenja.

1.3 DELOVNE HIPOTEZE

1. Psi se skotijo z lastno črevesno bakterijsko mikrobioto ne glede na način poroda.
2. Mikrobiota mekonija je povezana z oralno in vaginalno mikrobioto matere.
3. Mikrobiota mekonija vpliva na preživetje pasjih mladičev v prvih 60 dneh po porodu.

2 PREGLED LITERATURE

2.1 SPOLNI CIKLUS PSICE

Psice so monoestrične živali, kar pomeni, da vsakemu aktivnemu delu spolnega ciklusa (proestrus, estrus, metestrus) sledi neaktivni del (anestrus), cikel pa se običajno pojavlja dvakrat letno, navadno spomladi in jeseni. Samice spolno dozorijo pri 6–14 mesecih, kar je v pozitivni korelaciji z velikostjo pasme. Interval med posameznima gonitvenima ciklusoma je približno sedem mesecev, glede na pasmo lahko variira in se giblje med 26–37 tednov. Gonitveni cikel delimo v štiri faze: proestrus, estrus, metestrus ali diestrus in anestrus. V proestrusu postanejo sramne ustnice edematozne, značilen je rahlo krvav izcedek. V tem obdobju se samci zanimajo za psice, vendar jih te zavračajo. V fazi estrusa samice samce sprejmejo in postanejo voljne za parjenje. Edem sramnih ustnic se zmanjša, vaginalni izcedek se zbistri, postane redkejši in manj obilen. Proestrus traja 5–20 dni, estrus 5–15 dni, vsak v povprečju devet dni. Do ovulacije pride 48–60 ur po valu luteinizirajočega hormona (LH-valu). V proestrusu se citološka slika vaginalnega brisa začne spremnijati iz prevladujočih parabazalnih celic (skupaj z nevtrofilci) v prevladujoče intermedialne celice in potem v poroženevajoče celice, ki jih je največ 1–6 dni pred LH-valom. Estrus traja, dokler pri citološki preiskavi brisa ne vidimo deskvamacije in tanjšanja vaginalnega epitelija in pojavljanja nevtrofilcev. Takšne spremembe se navadno pojavijo od 6. do 11. dneva (v povprečju 8. dan) po LH-valu (Concannon, 2011; Peterson in Kutzler, 2011a; Noakes, 2009a). V metestrusu se celice vaginalnega brisa nenadoma spremenijo. Spet najdemo parabazalne epitelne celice in pogosto tudi nevtrofilce (Blendinger, 2007). Metestrus se začne, ko začnejo psice samce zavračati in navadno traja od 50 do 80 dni. Po koncu metestrusa nastopi anestrus, v katerem samice ne kažejo nobenih zunanjih znakov gonitve (Noakes, 2009a, Concannon, 2011).

Zanimivost v spolnem ciklusu psice je ta, da je obdobje metestrusa enako dolgo ne glede na to, ali je psica breja ali ne. Razlog za to je odsotnost luteolizina pri nebreji psici (Graubner in sod., 2017). Psice grejo v anestrus tudi po normalni brejosti. Ta faza traja 2–10 mesecev, preden se vrnejo v proestrus (Noakes, 2009a; Concannon, 2011).

2.2 OPLODITEV (fertilizacija)

Dolžina brejosti pri psicah traja 64–66 dni in je merjena od LH-vala do poroda, interval brejosti ob enem samem parjenju pa se lahko giblje tudi 56–69 dni. (Concannon, 2002). Do ovulacije

pride 48–60 ur po LH-valu. Do oploditve pa lahko pride šele 2,5–3 dni po ovulaciji, saj psica ovulira primarni oocit, ki še ni sposoben oploditve. V približno treh dneh pride do zaključka mejotične delitve, pri čemur se primarni oocit razvije v sekundarnega. Ta oocit je dozorel, sposoben oploditve in se lahko združi s semenčico (Concannon, 2000). Za oploditev, ki poteka v ampuli jajcevoda, je potrebna združitev jedra semenčice in oocita (Noakes, 2009b).

Večinski del začetnega razvoja plodu smo povzeli po humani literaturi. Specifične spremembe, značilne za pse, so dodatno poudarjene.

Semenčica mora pred oploditvijo pod vplivom tekočine v jajcevodu dozoreti. Dozorevanje semenčice imenujemo kapacitacija. V tem procesu se na površini semenčice prerazporedijo in odstranijo membranski proteini, spremeni se tudi presnova semenčic. Progresivna gibljivost, ki je nujna za prihod semenčice na mesto oploditve, preide v hiperaktivno gibanje, ki omogoča semenčici prehajanje skozi cono pelucido (lat. *zona pellucida*, ZP) jajčne celice. Akrosom je membranski organel semenčice, ki je vrstno specifičen in vsebuje številne proteolitične encime, ki sodelujejo pri akrosomski reakciji. Specifični glikoproteini oocita v coni pelucidi so sposobni prepoznati semenčico in sprožiti akrosomsko reakcijo. Akrosomska reakcija sproži specifična vezava cone pelucide oocita in je nujno potrebna za oploditev. Cona pelucida obdaja oocit in je sestavljena iz treh sulfatnih glikoproteinov: ZP1, ZP2 in ZP3. Plazemska membrana semenčice, ki leži nad akrosomom, se veže na ZP3 oocita in sproži akrosomsko reakcijo. ZP2 deluje kot sekundarni receptor, ki veže semenčico samo po sprožitvi akrosomske reakcije. Po teh reakcijah semenčica lahko prodre v cono pelucido.

Oploditev je vrstno specifična in le jajče samice iste vrste lahko sproži akrosomsko reakcijo v semenčici, kar omogoča njegovo združitev z jajčcem. Ko prva semenčica vstopi v oocit, se cona pelucida zaradi preoblikovanja iz ZP2 in ZP3 v ZP2f in ZP3f zadebeli in ustvari prepreko, kar onemogoča vstop drugim semenčicam (polispermijo) (Schatten, 2007; Avella; 2014). Rezultat oploditve, kjer pride do združitve dveh haploidnih gamet, je diploidna zigota, ki predstavlja genetsko novo celico (Noakes, 2009b; Aurich in Ellinger, 2014).

2.3 RAZVOJ ZARODKA IN NASTANEK POSTELJICE

2.3.1 Zgodnja embriogeneza (zgodnji razvoj plodu)

Z mitotičnimi delitvami zigote nastane morula, ki ima 16–32 celic. Zunanje celice morule se pričnejo med seboj močneje stiskati kot celice v njeni notranjosti. Prične se ločevanje v dve skupini celic – v zunanjem in notranjem. Celice notranje skupine oblikujejo presledkovne stičnice,

ki omogoča medcelično komunikacijo in povezanost celic notranje skupine. Zunanja skupina celic pa med seboj oblikuje tesne stičnice. Ti stiki med celicami skrbijo za prepustnost zunanjega sloja. Po oblikovanju tesnih stičnic se znotraj zarodka nabira tekočina in tako nastane blastocel. V tem stadiju govorimo o blastocisti, ki prehaja iz jajcevoda v maternico (od 10 do 12 dni po LH-valu) in po njej prosto potuje (Lopate, 2012; Senger, 2003a).

Zaradi narave tesnih stičnic v zunanjem sloju celic in presledkovnih stičnic v notranjem sloju celic se zarodek razdeli na dve različni populaciji celic, znani kot znotrajcelična masa in trofoblast. Notranja celična masa je celična osnova za zarodek, trofoblast pa je osnova za horij, ki kasneje oblikuje posteljico (Senger, 2003a; Noakes, 2009b).

Celice v blastocisti se še naprej mitotično delijo, količina tekočine v blastocelu narašča, kar poveča pritisk znotraj zarodka. Hkrati nastaja vse več proteolitičnih encimov, ki jih proizvajajo celice trofoblasta. Ti encimi slabijo cono pelucido. Posledično se blastocista krči in sprošča, kar občasno pritiska na oslabljeno cono pelucido. Ti pritiski skupaj z istočasno rastjo blastociste in encimsko razgradnjo cone pelucide vodijo do razpoka blastociste.

Celice blastociste se sprostijo in zarodek prosto potuje (Senger, 2003a). Najprej potuje do nasprotnega (ipsilateralnega) roga maternice, odvisno od tega, kje je prišlo do ovulacije. Nato migrira med obema rogovoma in se do ugnezditve hrani s hranili iz materničnega mleka, ki ga izločajo endometrijske žleze maternice (Noakes, 2009b; Lopate, 2012). Migracija blastociste je prisotna pri 48–49 % psic in je verjetno namenjena izenačenju števila plodov v obeh rogovih maternice (Reynaud in sod., 2006).

2.3.2 Nastanek plodovih ovojnici

Po poku blastociste se začne hitra rast zarodka, ki ga spremlja tudi hiter razvoj plodovih ovojnici, in sicer: rumenjakove vrečke, amnija, horija in alantoisa.

Blastocista je sedaj sestavljena samo iz notranjega sloja celic – trofoblasta in blastocele. Zelo zgodaj v embrionalnem razvoju se začne pod notranjo celično maso razvijati primitivni endoderm, ki raste navzdol in tvori oblogo na notranji površini trofoblasta. Hkrati se med primitivnim endodermom in zarodkom razvija mezoderm. Ko se rast endoderma zaključi, ta oblikuje votlino, imenovano rumenjakova vrečka. Trofoblast se preimenuje v trofektoderm. Mezoderm raste naprej in oblikuje vrečo, ki obdaja rumenjakovo vrečko. Novo oblikovana mezodermalna vrečka potiska proti trofektodermu in začne oblikovati krilom podobne strukture, imenovane amnijske gube. Mezoderm sedaj v celoti obdaja rumenjakovo vrečko in

razvijajoči se alantois. Alantois je divertikel primitivnega črevesja, v katerem se zbirajo odpadne snovi zarodka. Mezoderm se začne spajati s celicami trofektoderma. Oba skupaj oblikujeta horij. Amnijske gube nadaljujejo rast navzgor okrog zarodka. Rumenjakova vrečka se počasi manjša, alantois pa raste in se širi. Robova amnijskih gub se združita in tako oblikujeta dvojno vrečo, ki obdaja zarodek. Notranja vreča je sestavljena iz trofektoderma in mezoderma in se imenuje amnij (Senger, 2003a). Amnij oblikuje amnijsko votlino z amnijsko tekočino, ki varuje zarodek. Eksocelom je zunanjega votlina, ki nastane z združitvijo amnijskih gub in povsem pokriva plod. Alantois se širi naprej in začne zapolnjevati eksocelom, razen na mestu okrog zarodka, kjer je amnij v kontaktu s horijem, ki v celoti obdaja zarodek. Alantois se spoji s horijem v alantohorij (horioalantois) v strukturo, ki je vpletena v nastanek posteljice. Alantois se spoji tudi z amnijem v alantoamnij. (Noakes, 2009b; Senger, 2003a). Rumenjakova vrečka počasi izginja (Senger, 2003a).

Pri psih pride do popolne ločitve alantoisa in amnija, eksocelom pa obdaja amnij, zato se plod rodi prekrit z amnijem (Hafez, 2017).

2.3.3 Ugnezditev in nastanek posteljice (implantacija in placentacija)

Izraz ugnezditev (implantacija) je pogosto uporabljen za pripenjanje plodovih ovojnici na endometrij maternice. Ocenjeno je, da se pri psicah konča 18–21 dni po ovulaciji, kar pomeni 20–22 dni po LH-valu (Reynaud in sod., 2006; Senger, 2003b).

Posteljica in plodove ovojnice omogočajo prenos hrani, presnovkov in plinov od matere do plodu, vračanje odpadnih snovi do matere ter ustvarjanje mreže za prenos hormonov, citokinov in rastnih faktorjev. Posteljica z opravljanjem svojih nalog odločilno vpliva na razvoj plodu (Aralla in sod., 2013). Sestavljena je iz plodove komponente, ki izhaja iz horija (komponente zarodka) in iz maternalne komponente, ki je modifikacija endometrija maternice. Funkcionalna enota plodove komponente so horijski vili (resice), ki so majhni, prstkom podobni izrastki na površini horija, usmerjeni proti endometriju. Glede na njihovo razporeditev nastanejo različne vrste posteljic. Posteljice se razlikujejo tudi glede na število plasti, ki ločujejo plodovo in materino kri (Senger, 2003b). Tip posteljice določimo z razdelitvijo po Grosserju, ki temelji na histoloških značilnostih povezave med horijem in steno maternice (Noakes, 2009b; Furukawa in sod., 2014).

2.3.4 Posteljica pri psih

Pri psih so resice horija razporejene v obliki pasu, ki obdaja plod, zato se takšna posteljica imenuje *placenta zonaria*. Sestavljena je iz osrednjega dela in dveh paraplacent na vsakem koncu centralne regije. V centralni coni prihaja do izmenjave snovi, v območju paraplacent pa verjetno prihaja do izmenjave železa med materjo in plodom. Distalna konca horija sta slabo prekrvljena in sta verjetno vpletena v neposredno absorpcijo hranil iz lumna maternice.

Psi imajo po razdelitvi po Grosserju endoteliohorialni tip posteljice. To pomeni, da prihaja do prehajanja trofoblastov horija v endometrij maternice tako, da ti na koncu obdajajo maternalne kapilare (Noakes, 2009b; Senger, 2003b). Epitelij endometrija izgine, endotelij maternalnih kapilar pa velikokrat hipetrofira (Senger, 2003b; Carter and Enders, 2015). Takšna posteljica ima pet plasti, ki ločujejo maternalno in plodovo kri. V območju paraplacent je posteljica delno hemohorialnega tipa. Pri tem tipu posteljice, ki ga najdemo pri človeku in drugih primatih, pa horijski epitelij leži neposredno v bazenih maternalne krvi, pri čemer je olajšano prehajanje snovi, saj te prehajajo le skozi tri plasti (Senger, 2003b; Furukawa in sod., 2014).



Slika 1: Pasja posteljica (Kalin, 2018)

Picture 1: Canine placenta (Kalin, 2018)

2.4 VAGINALNI POROD

2.4.1 Sprožilni dejavniki in hormonske spremembe v času poroda

Sprožitev poroda pogojuje niz kompleksnih dogodkov, ki še niso dokončno raziskani. Dobro je znano, da to kaskado sproži plod, ko ob koncu brejosti dozori njegova hipotalamo-hipofizno-adrenalna os. Zaradi omejenega prostora in manjše oskrbe plodu s hranili, se plod znajde v stresni situaciji, kar poveča produkcijo kortizola, ki se sprošča iz plodove nadledvične žleze. Kortizol spodbuja zorenje (maturacijo) tkiva in sproža dramatične spremembe v telesu matere. Pod vplivom kortizola koncentracija progesterona pade, koncentracija estrogena pa naraste. Te hormonske spremembe vplivajo na spremembe v reprodukcijskem traktu, še posebej na materničnem vratu. Zaradi povišane koncentracije estrogena se poveča izločanje prostaglandinov, predvsem PGF_{2α}. Do padca progesterona pride tudi zaradi sekrecije PGF_{2α}, ki povzroči luteolizo. Kasneje je PGF_{2α} skupaj z oksitocinom, ki se med porodom sprošča iz hipofize, odgovoren za stimulacijo krčenja miometrija (prva faza poroda), kar se konča z iztisom plodu (druga faza poroda) in plodovih membran (tretja faza poroda) (Aurich in Ellinger, 2014; Davidson, 2013).

V literaturi ni bilo mogoče zaslediti podatka o sekreciji kortizola pri plodu v obdobju pozne brejosti. Poznano pa je, da se kortizol pri psicah dvigne 8–24 ur pred porodom. Ta dvig naj bi bil posledica stresa, ki je povezan z gradnjo gnezda, s fizično aktivnostjo in z začetkom krčenja maternice.

Koncentracija progesterona začne postopno padati od 30. dneva brejosti naprej, nato pa drastično pade 12–40 ur pred porodom prvega mladiča. Slednja sprememba sovpada s povečanim sproščanjem PGF_{2α}, saj se v zadnjih 48 urah pred porodom poveča koncentracija metabolita prostaglandin F2α (PGFM). Proizvodnja prostaglandinov izvira iz plodovih trofoblastnih celic v placenti. Odražanje encima ciklooksigenaze 2 (COX-2), ki uravnava sintezo prostaglandinov, se v teh celicah v predporodnem obdobju močno spreminja. Ti prostaglandini so verjetno odgovorni za luteolizo, vendar obstajajo dokazi, da k luteolizi pripomorejo tudi drugi intralutealni procesi, kot so invazija makrofagov, masivno izločanje apoptočnih encimov in znatno zmanjšano izražanje steroidogene regulacije. Padec progesterona vpliva na povišanje prolaktina, kar se zgodi 1–2 dni pred porodom. Ni znano, ali ima prolaktin kakšno vlogo pri porodu (Taverne in Noakes, 2019). Relaksin je hormon, ki je pomemben za pripravo na porod. Izloča ga posteljica in povzroči sproščanje vezi dimeljnice in pripadajoče mišičnine, kar omogoči plodu, da lažje prehaja skozi porodni kanal (Davidson,

2013). Oksitocin nima pomembne funkcije pri sprožitvi poroda, ker se koncentracija dvigne samo enkrat pred začetkom druge faze poroda.

Koncentracija estrogena je konstantna in večinoma na zelo nizkem nivoju med brejostjo in začne padati dva dni pred porodom in v času poroda doseže enake vrednosti kot pri nebreji psici. Prolaktin se zviša, ko koncentracija progesterona pada, torej 1–2 dni pred porodom (Taverne in Noakes, 2019).

2.4.2 Faze vaginalnega poroda

Vaginalni porod poteka v treh fazah, ki postopoma prehajajo ena v drugo. Prva faza je aktivacijska faza, v kateri pride do hitrega mehčanja materničnega vratu, miometrij se pripravlja na krčenje zaradi povečanega izločanja različnih snovi, ki sprožijo porod (*capable of activating the onset of parturition, CAPs*); raztegljivost stene maternice se poveča. V tej fazi se zgodijo vse endokrine spremembe, ki jih sproži plod in vplivajo tudi na spremembe na materinem telesu (materničnem vratu in miometriju). V drugi, stimulacijski fazi se moč krčenja miometrija poveča, maternični vrat se raztegne in pride do iztiskanje plodu. V tretji, poporodni fazi se iztisnejo plodove ovojnica in začne se zmanjševanje maternice ter krčenje materničnega vratu zaradi nedejavnosti organa (Taverne in Noakes; 2009).

2.4.2.1 Prva faza poroda

Psice si urejajo gnezdo že pred prvo fazo, medtem ko v prvi fazi začnejo s pravim gnezdenjem (Peterson in Kutzler, 2011b). Lahko pride tudi do iztekanja mleka iz seskov že nekaj dni pred porodom, predvsem pri tistih psicah, ki so že večkrat kotile (Taverne in Noakes; 2009). Psice v tej fazi so nemirne, neješče, bruhajo, kopljajo, praskajo po tleh, se tresejo in pogosto sopejo (Concannon, 2002). Osem do 24 ur pred začetkom poroda pri večini pride do prehodnega padca telesne temperature. Za pravilno oceno padca telesne temperature je treba opravljati meritve rektalne temperature na 1 do 2 uri že nekaj dni pred načrtovanim porodom, saj v zadnjem tednu rektalna temperatura niha, kar je posledica nihanja koncentracije progesterona. Padec se giblje med 1–3,5 °C glede na velikost in tip dlake psice. Pri miniaturnih, kratkodlakih pasmah lahko pade na 35 °C, pri srednje velikih na okoli 36 °C, pri velikih psicah z dolgo dlako pa se redko spusti pod 37 °C. Krčenje maternice je občasno, abdominalne komponente krčenja še ni moč opaziti (Linde-Forsberg, 2010; Taverne in Noakes; 2009).

2.4.2.2 Druga faza poroda

Druga faza poroda se začne z močnim krčenjem maternice in z iztiskanjem plodu. Večina psic leži v kotilnici v sternalni legi, čeprav včasih tudi vstanejo. Po večkratnih potiskih se v nožnici pojavi alantohorij prvega mladiča. Večinoma ga psice predrejo ob lizanju sramnih ustnic. Rojstvo prvega mladiča se zgodi v roku ene ure po začetku potiskanja, redko kasneje. Pogosto se mladič skoti že po 15 minutah. Popkovnica se lahko pretrga sama ali pa jo psica pregrizne (Linde-Forsberg, 2010; Taverne and Noakes, 2009). Posteljico in plodove membrane psica večinoma poje, pogosto pa jih kasneje izbruha (Concannon, 2002). Posteljica se porodi skupaj z mladičem ali pa v 10 do 15 minutah po porodu. Po porodu prvega mladiča psica počiva, ga liže in neguje. Mladič se začne premikati proti seskom in začne sesati, ko postane dovolj živahan. Psica pogosto pogleduje proti sramnim ustnicam in sproti liže izcedke. Stiskanje se običajno nadaljuje po 30 minutah po rojstvu prvega mladiča, lahko pa psica počiva tudi 1 do 2 uri. Drugi mladič se po navadi skoti hitreje kot prvi, vendar je to odvisno od položaja in teže mladiča. Večinoma so intervali med mladiči enakomerni, od 30 do 60 minut, ne glede na pasmo. Psica lahko odloži porod zaradi motenj iz okolice in stresa. Do tega pride zaradi sproščanja kateholaminov in padca koncentracije oksitocina v plazmi (Taverne in Noakes; 2009). Druga faza običajno traja od 4 do 8 ur, čeprav so Romagnoli in sodelavci (2004) poročali o rojstvu štirih zdravih mladičev po 34 urah od rojstva prejšnjega mladiča (Taverne in Noakes; 2009).

2.4.2.3 Tretja faza poroda

Tretja faza lahko traja do 24 ur po rojstvu zadnjega mladiča. Takrat se skotijo še zadnje plodove ovojnice in s tem je porod zaključen. Plodove ovojnice se lahko izločijo že prej, individualno po vsakem mladiču. Mladič se lahko skoti s plodovimi ovojnicami prejšnjega mladiča, kar nakazuje, da je mladič prešel posteljico, preden se je ta odtrgala od stene maternice (Taverne in Noakes; 2009).

2.5 TEŽAK POROD (distocija)

Pojem distocija izhaja iz grščine in je sestavljen iz dveh besed: *dys* = težko, boleče, nepravilno ali nenormalno in *tokos* = rojstvo (Feldman in Nelson, 1996). Čeprav se večina psov skoti z vaginalnim porodom, se distocija pri nekaterih pasmah (brahicefaličnih in velikih pasmah) pogosteje pojavlja (20–80 %) (Titkova, 2017). Približno 16 % vseh psic trpi za distocijo, od teh pa jih 60–80 % potrebuje carski rez (Doebeli in sod., 2013; Gilson, 2003).

2.5.1 Vzroki za distocijo

Distocija se lahko pojavi zaradi vzrokov, ki so odvisni od matere ali od plodu oziroma so kombinacija obojega.

Vzroki, ki so odvisni od matere, so (Lopate, 2012; Walett-Darvelid in Linde-Forsberg, 1994):

- delna ali popolna neodzivnost maternice (primarna ali sekundarna),
- anatomske nepravilnosti medenice,
- zožitve in pregrade v nožnici,
- prekomerna količina maščobe okrog nožnice,
- raztrganje trebušne prepone (poškodba ali hernija trebušne votline),
- ingvinalna hernija,
- zasuk maternice,
- raztrganje maternic
- vedenjske motnje (tesnoba, strah).

Vzroki, ki so odvisni od plodu, so (Noakes, 2009c):

- napačen položaj plodu,
- relativno (majhne pasme z malo mladiči) in absolutno preveliki plodovi (pasma),
- razvojne napake,
- patologija plodu (ascites, anasarca, emfizem).

Distocija pri psicah je v 75 % odvisna od vzrokov, ki nastanejo pri materi, in samo v 25 % od vzrokov, ki nastanejo pri plodu.

2.5.2 Prepoznavanje distocije

Prepoznavanje distocije pri psicah je oteženo zaradi veliko različnih fizioloških nihanj (Linde-Forsberg, 2010). Ne glede na vzrok je distocija urgentno stanje, na katero je lastnike opozoriti, jih pripraviti in dobro poučiti o tem, na kaj morajo biti pozorni in kdaj naj se obrnejo na veterinarja (Lopate, 2012). Vzreditelji in veterinarji morajo biti pozorni na naslednje (klinične) znake distocije (Linde-Forsberg, 2010; Lopate, 2012, Zakošek Pipan in Plavec, 2018):

- podaljšana brejost ob znanem datumu ovulacije,
- breja psica, ki je 72 dni po parjenju,
- rektalna temperatura pada za 1–3 °C in se vrne na normalno brez znakov poroda po 24 urah,
- plodove tekočine so opažene že pred dvema ali tremi urami, porod pa se še vedno ni začel,

- občasno napenjanje psice več kot 2–4 ure pred porodom prvega mladiča ali več kot eno uro med posameznimi mladiči,
- popadki so izginili pred več kot dvema urama ali so šibki in neenakomerni že 2–4 ure,
- popadki so normalni, vendar postajajo bolj neenakomerni in šibki,
- močni, konstantni, neproduktivni popadki, ki vztrajajo že več kot 20–30 minut,
- psica počiva več kot tri ure pred naslednjim mladičem,
- psica skoti mrtve mladiče,
- mladič je delno skoten že več kot 10–15 minut,
- prisoten je zelen ali črn izcedek iz vagine, preden se skoti prvi mladič,
- krvav izcedek tekom poroda,
- poznani so očitni vzroki za distocijo (zlom medenice) ali je znana zgodovina predhodne distocije,
- psica je v drugi fazì poroda že več kot 12 ur in še ni poleženo celotno leglo,
- psica je v akutni abdominalni bolečini, kolabira ali med rojevanjem kaže znake šoka.

2.6 CARSKI REZ

Carski rez je treba narediti, če je srčni utrip mladičev konstantno manj kot 170–190/minuto, če so v maternici še vedno več kot štirje plodovi, če obstaja obstrukcija, ki preprečuje porod ali če je prisotna inercija, ki je neodzivna na konzervativno terapijo (z zdravili) (Lopate, 2012).

Indikacije za carski rez so še (Linde-Forsberg, 2010):

- nepravilnosti medenice ali mehkega tkiva v porodnem kanalu,
- absolutno ali relativno preveliki plodovi, spački,
- premajhna količina plodovih tekočin,
- nepravilen položaj plodu, ki ga ni mogoče naravnati,
- mrtvi, razpadajoči plodovi,
- nosečniška toksemija,
- nezdravljena distocija,
- profilaksa oz. elektivni carski rez (glede na prejšnjo pojavnost distocije).

Ko je odločitev glede carskega reza dokončna, je treba brez odlašanja izvesti kirurški poseg. Psica velikokrat preživi ure bolj ali manj intenzivnega rojevanja in lahko trpi za fizično izmučenostjo, dehidracijo, acidobaznim neravnovežjem, hipotenzijo, hipokalcemijo in pogosto tudi hipoglikemijo. Prognoza je dobra za psico in mladiče, če se carski rez naredi v 12 urah po

začetku druge faze poroda, dobra za psico, če se naredi med 12 in 24 urami, in slabša za mladiče ter slaba za psico in mladiče, če se naredi po 24 urah po začetku druge faze poroda. Mladiči večinoma ne preživijo in tudi življenje psice je ogroženo (Linde-Forsberg, 2010). Med operacijskim posegom je pomembno spremljanje oksigenacije, krvnega pritiska, srčnega utripa, časa polnjenja kapilar in izgube krvi, saj pride zaradi posega do velikih sprememb v volumnu krvi in tlakih. Za izvedbo posega obstaja veliko anestezijskih protokolov. Dejavni, ki jih je treba upoštevati pri izbiri protokola, so: čas od indukcije v anestezijo do poroda plodov, vzdrževanje pretoka maternice in zmožnost antagoniziranja učinkov anestetikov (Lopate, 2012). Vsi anestetiki, vključno z inhalacijskimi, prehajajo preko posteljice do plodov in tako vplivajo na neonatalno depresijo (Doebeli in sod., 2013).

Odločitev za elektivni carski rez sprejme veterinar na podlagi utemeljene domneve, da bo v primeru opustitve izvedbe kirurškega posega prišlo do distocije. Psici, pri kateri se bo izvedel elektivni carski rez, je treba določiti točni datum poroda oziroma najbolje je, da vstopi v prvo fazo poroda, da so zarodki dovolj razviti in imajo dovolj surfaktanta za normalno delovanje pljuč. Carski rez, ki se izvede pred 62 dnevi po LH-valu, lahko vodi v visoko neonatalno smrtnost zaradi nezrelosti plodov. Zato bi moral biti elektivni carski rez izведен od 62 do 64 dni po LH-valu. Raven progesterona je v tem času navadno $< 2 \text{ ng/ml}$ (Linde-Forsberg, 2010).



Slika 2: Carski rez (Kajdič, 2017)

Picture 2: Caesarean section (Kajdič, 2017)

2.7 VZPOSTAVITEV MIKROBIOMA PRI NOVOROJENCIH

2.7.1 MIKROBIOM

Izraz mikrobiota je leta 2001 zdravnik Joshua Lederberg definiral kot ekološki sistem komenzalnih, simbiotskih in morda patogenih mikroorganizmov, ki živijo v človeškem telesu. Prisotnost mikrobioma so odkrili in preučevali tudi pri živalih in celo rastlinah. Izraz mikrobiom pa uporabljamo za zbirko genomov mikroorganizmov, ki zasedajo določeno nišo; skupino mikroorganizmov, kot so bakterije, glice in arheje, pa imenujemo mikrobiota (Liu, 2016).

2.7.2 MIKROBIOM PRI LJUDEH IN POVEZAVE Z NOVOROJENCI

V okviru več novejših raziskav, v katerih so bile uporabljene moderne tehnologije sekvenciranja, so pri zdravih nosečnicah našli bakterijske združbe v maternici, placenti, amnijski tekočini, mekoniju in popkovni krvi (Perez-Muñoz in sod., 2017 ; Aagard in sod., 2014; Jiménez in sod., 2008; Collado in sod., 2008; Steel in sod., 2008; Stout in sod., 2013;

Wassenaar in Panigrahi, 2014; Bearfield in sod., 2002; Jiménez in sod., 2005; Rautava in sod., 2012).

Raziskave kažejo, da bakterije niso le prisotne v zarodkovem okolju pri zdravih (polnih) nosečnostih, temveč tvorijo mikrobiom posteljice, ki kolonizira zarodek (Pérez-Muñoz in sod., 2017; Aagard in sod., 2014; Jiménez in sod., 2008; Collado in sod., 2008; Wassenaar in Panigrahi, 2014). Prenos bakterij preko posteljice je tako del normalnega zarodkovega razvojnega procesa (Funkhouser in Bordenstein, 2013).

Med nosečnostjo pride do sočasnih sprememb v več fizioloških sistemih, ki omogočijo razvoj zdravega potomca. Pride do hormonalnih sprememb, povečanja telesne mase, uravnavanja imunskega sistema in drugih sprememb. Vse to dogajanje mora biti usklajeno, da se ohrani zdravje tako matere kot potomca. Nekatere z nosečnostjo povezane hormonalne in presnovne spremembe so poznane že desetletja. Šele pred kratkim so odkrili dramatične spremembe v sestavi mikrobioma, ki se dogajajo med nosečnostjo (Nuriel-Ohayon in sod., 2016).

2.7.2.1 Spremembe v črevesni mikrobioti med nosečnostjo

Med zdravo nosečnostjo pride do povečanja bakterijskega bremena (števila bakterij različnih bakterijskih vrst) in korenitih sprememb v sestavi črevesne bakterijske mikrobiote. Spremenjeni mikrobiom med drugim uravnava fiziologijo nosečnice, na njegovo sestavo pa vpliva prehrana nosečnice (Chu in sod. 2018).

V prvem trimesečju je mikrobiota nosečnice podobna kot pri zdravih ženskah, ki niso noseče, kasneje pa se mikrobiota spremeni. Močno se poveča raznolikost med nosečnicami, zmanjša pa se raznolikost pri posameznicah. Količinsko je več mikroorganizmov iz debel *Actinobacteria* (rod *Propionibacterium* in red *Bifidobacteriales*) in *Proteobacteria* (družina *Enterobacteriaceae*), zmanjša pa se raznovrstnost bakterijskih debel. Zmanjša se tudi število bakterij iz rodu *Faecalibacterium*, ki proizvajajo butirat in imajo protivnetni učinek (Koren in sod., 2012).

Bakterijska črevesna mikrobiota v tretjem trimesečju aktivno pripomore k imunskim in presnovnim spremembam v nosečnosti. Nosečnice pridobijo telesno maso, pojavi se odpornost proti inzulinu in vnetnim stanjem. Vse te spremembe so nujne za zagotovitev potreb rastočega zarodka (Nuriel-Ohayon in sod., 2016).

Ni še veliko znanega o tem, kako sestava materine črevesne mikrobiote med nosečnostjo vpliva na pridobivanje telesne teže, imunost in zdravje novorojenca (Nuriel-Ohayon in sod., 2016). Dosedanje raziskave so pokazale zgodnji vpliv materine mikrobiote na potomca (Rautava in

sod., 2012a). Postavljena je bila hipoteza, da ima izpostavitev mikrobote med nosečnostjo velik pomen pri preprečevanju alergijskih bolezni pri potomcu. Hipotezo so dokazovali v raziskavi, na podlagi katere so ugotovili zmanjšano pojavnost ekcema pri otrocih, katerih mame z alergijsko boleznijo in atopično senzibilizacijo so prejemale probiotike zadnja dva meseca nosečnosti in prva dva meseca dojenja (Abrahamson in sod., 2015; Ruatava in sod., 2012b).

2.7.2.2 Spremembe v mikrobioti nožnice med nosečnostjo

V mikrobioti nožnice pride med nosečnostjo do zmanjšanja bakterijske raznolikosti. Bakterijska združba je tudi stabilnejša, kar pomeni, da je med nosečnostjo manj sprememb v sestavi (Chu in sod., 2018; Nuriel-Ohayon in sod., 2016). Te spremembe vplivajo na zmanjšanje pH-vrednosti, nožnični izloček postane obilnejši (Nuriel-Ohayon in sod., 2016). Prevladujejo bakterije iz rodu *Lactobacillus* (*L. iners*, *L. crispatus*, *L. jensenii* in *L. johnsonii*) in redov *Lactobacillales* (predvsem družine *Lactobacilaceae*), *Clostridiales*, *Bacteroidales* in *Actinomycetales* (Aagaard in sod., 2012). Zmanjša se število anaerobnih bakterijskih vrst (Romero in sod., 2014). V eni od raziskav je bilo ugotovljeno, da se proti koncu nosečnosti sestava mikrobiote spremeni in je bolj podobna tisti pri ženskah, ki niso noseče (Nuriel-Ohayon in sod., 2016).

Ni dobro poznano, zakaj pride do takih sprememb v mikrobioti nožnice med nosečnostjo, so pa opisane povezave med ravnijo spolnih steroidnih hormonov in sestavo nožnične bakterijske mikrobiote. Povečana raven estrogena med nosečnostjo vodi v zadebelitev sluznice nožnice in povečano odlaganje glikogena v epitelne celice sluznice. Glikogen je glavni ogljikov hidrat, ki ga uporabljajo bakterije iz rodu *Lactobacillus* za proizvodnjo mlečne kisline. Slednja prispeva k zniževanju pH-vrednosti v nožnici, kar deluje mikrobicidno (Freitas in sod., 2017; Mirmonsef in sod., 2014).

2.7.2.3 Spremembe v mikrobioti ustne votline med nosečnostjo

Med nosečnostjo se poveča skupna masa bakterij, ki so normalno prisotne v ustni votlini. To je še posebej značilno za zgodnje obdobje nosečnosti, ko je povečana kolonizacija periodontalnih patogenih bakterij. V subgingivalnem plaku je več patogenih bakterij vrst *Porphyromonas gingivalis* in *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. V drugem in tretjem trimesečju je višja prevalenca pojavljanja kvasovk iz rodu *Candida* v primerjavi z ženskami, ki niso noseče (Fujiwara in sod., 2015).

Natančen mehanizem, ki vodi do spremembe v sestavi mikrobiote ustne votline med nosečnostjo, ni znan. Sumi se, da v povečano obremenitev ustne votline z mikrobi vodi splošno stanje imunskega sistema med nosečnostjo (Nuriel-Ohayon in sod., 2016).

2.7.2.4 Mikrobiota posteljice

Do nedavnega je veljala dogma, da sta posteljica in zarodek sterilna in da je to sterilno okolje ključno za zavarovanje zarodka pred okužbami. Kontaminacija posteljice naj bi bila posledica okužbe preko spodnjega dela spolovil (Nuriel-Ohayon in sod., 2016). Kljub tej paradigm pa je večina bakterij, ki so jih zaznali v posteljici pri znotrajmaterničih okužbah, ki so bile povezane s prezgodnjim porodom, spadala med komenzalne vrste, ki jih običajno najdemo v ustni votlini (Fardini in sod., 2010; Han in sod., 2006; Han in sod., 2010; Han in sod., 2009). Nekatere od teh ustnih bakterij, kot je *Fusobacterium nucleatum*, imajo sposobnost vezave na endotelij krvnih žil, kar vpliva na njihovo prepustnost. Tako morda olajšajo hematogeni prenos drugih komenzalnih bakterij (npr. *Escherichia coli*) v času placentacije (Fardini in sod., 2011).

Vedno več je dokazov, ki kažejo na prisotnost bakterij v normalni, zdravi posteljici (Nuriel-Ohayon in sod., 2016). Leta 1982 so prvič opisali prisotnost aerobnih bakterij v 16 % preiskanih vzorcev posteljic in prišli do zaključka, da so bakterije v posteljici prisotne tudi brez histoloških dokazov vnetja (horioamnionitisa). V tej raziskavi so vzorce posteljic pregledali histološko in z gojiščno preiskavo za izolacijo bakterij (Kovalovszki in sod., 1982).

Prisotnost mikroorganizmov v tkivih posteljice so opisali tako v prisotnosti kot odsotnosti očitne okužbe, z gojiščnimi in molekularnimi metodami (predvsem PCR in sekvenciranje 16S rRNK). Primerjalne raziskave kažejo, da metode, ki temeljijo na izolaciji bakterij, močno podcenjujejo pojavnost bakterij v tkivih posteljice. To je verjetno posledica prisotnosti bakterij, ki jih je težko ali nemogoče gojiti, saj potrebujejo posebno sestavo gojišč in atmosferske pogoje, nekatere pa celo ustreznno celično kulturo (Pelzer in sod., 2016).

Doslej ugotovljene značilnosti mikrobiote posteljice so, da jo sestavlja majhno število bakterij in da imajo omejeno raznolikost. Sestava se razlikuje v odvisnosti od maternih faktorjev, kot so pridobitev telesne teže med nosečnostjo, intrahepatična holestaza, preeklampsija in nosečniška sladkorna bolezen (Zheng in sod., 2015; Parnell in sod., 2017; Verstraelen in sod., 2016; Swidsinski in sod., 2013).

V več nedavnih raziskavah so ugotovili, da lahko pride do kolonizacije posameznih delov maternice pri normalni nosečnosti. Hipoteza o intrauterini kolonizaciji pravi, da sta materina

črevesna mikrobiota in/ali mikrobiota ustne votline glavni vir bakterij, ki kolonizirajo zarodek. Odvisno od interakcije med gostiteljem in mikroorganizmi ima lahko prisotnost bakterij v maternalno-fetalni enoti koristen ali škodljiv vpliv na nosečnost in/ali razvoj zarodka. Imunska toleranca, ki se pojavi med nosečnostjo, bi lahko bila vzrok za odsotnost vnetnega odziva na mikroorganizme, prisotne v posteljici in amnijski tekočini (Taddei in sod., 2018).

Aagaard in sodelavci (2014) so ugotovili, da je v posteljici majhna pogostnost bakterij in da njeni mikrobioti predstavljajo predvsem nepatogene vrste. Pri zdravih nosečnostih je bila sestava mikrobiote posteljice najbolj podobna mikrobioti ustne votline. Prevladovale so bakterije iz debla *Proteobacteria* (vrsta *Escherichia coli*), našli so tudi bakterije iz debel *Firmicutes* (rod *Streptococcus*), *Tenericutes*, *Bacteroidetes* in *Fusobacteria* (rod *Fusobacterium*). Od bakterijskih vrst so prevladovale *Escherichia coli*, *Prevotella tannerae* in nepatogene vrste iz rodu *Neisseria*.

Parnell s sodelavci (2017) je z metodo sekvenciranja DNK več variabilnih regij (MLST) ugotovila razliko v mikrobnem sestavi med bazalno ploščo posteljice, horijskimi resicami in zarodkovo amnijsko membrano. Razlika ni bila odvisna od tipa poroda. V vzorcih bazalne plošče so našli bakterije iz šestih različnih debel: *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes* in *Spirochaetes*, znotraj njih pa 185 taksonov. V vzorcih horijskih resic so našli pet bakterijskih debel: *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* in *Spirochaetes*, ki jih je predstavljalo 144 taksonov. Tudi v vzorcih amnijske membrane so našli pet bakterijskih debel: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes* in *Tenericutes*, te pa je predstavljalo 168 taksonov. Od bakterijskih vrst sta v vzorcih bazalne plošče in amnijske membrane prevladovali *Ralstonia insidiosa* in *Mesorhizobium spp.*, v vzorcih horijskih resic pa *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus iners* in *Ureaplasma nucleatum*. Rezultati so pokazali, da je bila sestava mikrobnih skupnosti zelo specifična glede na nišo posteljice. Taksoni bakterij z amnijske membrane so bili najbolj sorodni tistim, ki se običajno nahajajo v nožnici.

Stout in sodelavci (2013) so pri 27 % vzorcev bazalnih plošč posteljice s histološko preiskavo ugotovili znotrajcelične bakterije. Pri tem niso odkrili razlik med prezgodnjimi porodi in pravočasnimi porodi, prisotnost bakterij tudi ni bila odvisna od klinične ali histološke diagnoze horioalantoitisa.

Bakterije so izolirali tudi iz posteljic pri normalnih, zdravih nosečnostih. Zhu s sodelavci (2018) je izoliral bakterije iz debel *Firmicutes*, *Proteobacteria* in *Actinobacteria*, pa tudi predstavnice

gliv iz rodu *Candida*. Prevladovali sta bakteriji *Escherichia coli* (družina *Enterobacteriales*) in *Enterococcus faecalis* (družina *Enterococcaceae*). V istih vzorcih so s sekvenciranjem ugotovili, da prevladujejo bakterije iz debel *Proteobacteria*, *Thermus* in *Firmicutes* (Zhu in sod., 2018).

Collado in sodelavci (2016) so na gojišču iz vzorcev posteljice izolirali bakteriji *Cutibacterium acnes* (sinonim *Propionbacterium acnes*) in *Staphylococcus warneri*. Z metodami sekvenciranja so ugotovili, da v istih vzorcih prevladujejo bakterije iz debla *Proteobacteria*, med njimi pa bakterije iz družine *Enterobacteriales*, med katerimi je bilo največ predstavnikov rodov *Enterobacter*, *Escherichia* in *Shigella*. Takšna sestava mikrobiote je podobna sestavi črevesne mikrobiote pri nosečnicah (Koren in sod., 2012). Relativna zastopanost rodov *Streptococcus*, *Staphylococcus* in *Lactobacillus* je bila manj kot 1 %.

Kljud prepričljivim rezultatom omenjenih raziskav obstajajo dokazi, da se bakterije, odkrite v vzorcih posteljic pri ljudeh, ne razlikujejo od kontrolnih kontaminiranih vzorcev (Chen in sod., 2019). Dokazi v podporo hipotezi o intrauterini kolonizaciji, po kateri zametki mikrobioma pri zarodku nastanejo že v maternici, temeljijo na raziskavah, pri katerih so uporabljali molekularne metode z nezadostno mejo detekcije za proučevanje mikrobnih populacij z nizko biomaso. Poleg tega niso uporabljali primernih kontrol za preverjanje kontaminacije in niso uspeli dokazati viabilnosti (živosti) ugotovljenih bakterij (Pérez-Muñoz in sod., 2017).

Lauder in sodelavci (2016) so prečistili DNA iz bazalne plošče in zarodkovega dela posteljice in prešteli skupne kopije gena za 16S rRNA v tkivu. Na podlagi rezultatov so sklepali, da posteljica vsebuje nizkobakterijsko obremenitev, primerljivo z negativnimi kontaminacijskimi kontrolami. Bakterijske linije v posteljici, ki so jih določili s sekvenciranjem, se niso bistveno razlikovale od tistih v brisih iz zraka, sterilnih brisih in ekstrakcijskih praznih kontaminacijskih kontrolah. Ista raziskovalna skupina je razširila preiskave na posteljice dojenčkov, rojenih spontano pred rokom in ob roku. Z molekularnimi metodami so ugotovili, da so vzorci posteljic zelo podobni kontaminacijskim kontrolam. Pri tem niso potrdili nobene razlike glede na čas in tip poroda (Leiby in sod., 2019).

Leon in sodelavci (2018) tudi niso uspeli določiti zanesljivega mikrobioma posteljice. Z metodo sekvenciranja 16S rRNA so v vzorcih bazalne plošče posteljice ugotovili bakterije iz rodov *Mycoplasma* in *Ureaplasma*, vendar le v vzorcih posteljice pri prezgodnjih porodih, ne pa pri porodih ob roku.

Nekateri avtorji so na podlagi pregleda dosedanjih raziskav prišli do zaključka, da je mikrobiota v posteljici prisotna le pri bolezenskih stanjih (Perez-Muñoz in sod., 2017; Hornef in Penders, 2017). Pogost argument v podporo temu zaključku je dejstvo, da je možno s carskim rezom in z vzgajanjem potomcev v sterilnem okolju vzgojiti miši, proste mikrobov (Perez-Muñoz in sod., 2017).

Perez-Muñoz in sodelavci (2017) zaradi pomanjkanja dokazov o obstoju bakterijskih združb v intrauterinem okolju predlagajo usmeritev prihodnjih raziskav v poporodno pridobitev in razvoj črevesnega mikrobioma in njegov pomen za zdravje ter vlogo izpostavitve zarodka mikrobnim presnovkom in snovem, ki izvirajo iz črevesne mikrobiote matere.

2.7.2.5 Mikrobiota mekonija

V primerjavi z vzorci iztrebkov odraslih ljudi je za mekonij značilna manjša raznolikost bakterijskih vrst, večja raznolikost med posamezniki, obogatitev debla *Proteobacteria* in osiromašenje debla *Bacteroidetes* (Hu in sod., 2013). Ardissono in sodelavci (2014) so odkrili povezavo med sestavo mikrobiote mekonija in starostjo dojenčkov ob porodu. Pri dojenčkih, rojenih pred rokom, so bili številčno bolj zastopani rodovi *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Photorhabdus* in *Tannerella*.

Več avtorjev je na podlagi mikrobiote mekonija predpostavilo, da ima ta mikrobiota znotrajmaternični izvor in sodeluje pri kolonizaciji črevesja novorojenca (Gosalbes in sod., 2013; Jiménez in sod., 2008; Collado in sod., 2016).

Jiménez in sodelavci (2008) so raziskovali mikrobioto v mekoniju 21 novorojenih otrok. Vzorce mekonija so jemali v dveh urah po porodu, preden so bili novorojeni prvič podojeni. Bakterije so izolirali na gojiščih in jih identificirali s pomočjo PCR in sekvenciranja. V posameznem mekoniju so izolirali od ene do pet različnih bakterijskih vrst. Najpogosteje so izolirali *Enterococcus faecalis*, drugi najpogosteji je bil rod *Staphylococcus*, v katerem je prevladovala vrsta *Staphylococcus epidermidis*, na tretjem mestu sta bili vrsti *Escherichia coli* in *Enterobacter spp.* V posameznih vzorcih so izolirali tudi vrste *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Rothia mucilaginosa* in *Klebsiella spp.* Poleg izolacije bakterij iz mekonija novorojencev so raziskovali tudi mikrobioto mekonija s carskim rezom rojenih miši. Brejim mišim so oralno aplicirali označen sev bakterije *Enterococcus faecium*. To bakterijo so nato izolirali in zaznali s pomočjo metode PCR v mekoniju novorojenih miši, niso pa je odkrili v vzorcih mekonijev

novorojenih miši, ki so jih povrgle matere iz kontrolne skupine, ki jih niso inokulirali s to bakterijo. Na podlagi rezultatov so ugotovili, da mekonij novorojencev ni sterilен in da se kolonizacija črevesja najverjetneje začne že pred porodom.

Leta 2016 je bila objavljena prva raziskava, ki je dokazala, da mikrobiota posteljice, amnijske tekočine in kolostruma prispeva k obporodni kolonizaciji zarodkovega črevesja. Collado in sodelavci (2016) so raziskovali mikrobioto mekonija, posteljice, amnijske tekočine in kolostruma. V raziskavo so vključili 15 zdravih mater in njihovih novorojencev. Vrsta poroda je bil elektivni carski rez ob roku za porod. Sestavo in stopnjo metagenomske aktivnosti mikrobioma so ugotavljal z molekularnimi metodami in ugotovili so podobnosti med mikrobioto v mekoniju in tisto v posteljici ter amnijski tekočini. V mekoniju so našli bakterije iz 75 družin, od katerih je bilo 41 prisotnih tudi v vzorcih tako amnijske tekočine kot posteljice, 15 pa samo v amnijski tekočini. Rodovi bakterij, ki so jih našli v vseh treh vrstah vzorcev (mekonij, posteljica, amnijska tekočina), so *Streptococcus*, neklasificirane bakterije iz družine *Enterobacteriales* (predvsem iz rodov *Enterobacter* in *Escherichia*), *Cutibacterium*, *Lactobacillus* in neklasificirane bakterije iz reda *Bacillales*. V vseh vzorcih mekonijev, posteljic in amnijske tekočine so bile prisotne bakterije iz rodov *Escherichia/Shigella*, *Lactobacillus* in *Cutibacterium*. Pri določenih parih mater in novorojencev so v vseh treh tipih vzorcev našli bakterije iz rodov *Bifidobacterium*, *Nitrobacter* in *Clostridium*.

Ugotovili so, da je mikrobiota v mekoniju, kljub podobnostim z mikrobioto posteljice in amnijske tekočine, edinstvena tako po sestavi kot tudi po metagenomski aktivnosti. V vzorcih mekonijev so prevladovale bakterije iz debla *Firmicutes*, najbolj je bila zastopana družina *Staphylococcaceae*. V primerjavi z vzorci posteljic je bilo več bilo bakterij iz družin *Bacillaceae* in *Streptococaceae*.

Ugotovili so tudi podobnosti med mikrobioto mekonija in kolostruma. 54 od 75 bakterijskih družin, ki so jih našli v mekoniju, je bilo prisotnih tudi v vzorcih kolostruma. V obeh vrstah vzorcev so našli tudi določene enake rodove in celo več vrst bakterij.

Na podlagi rezultatov so ugotovili, da bi se kolonizacija zarodkovega črevesja lahko začela že v maternici z bakterijami iz posteljice in amnijske tekočine. Menijo tudi, da pride med nosečnostjo do selektivnega prenosa bakterij v mlečno žlezo in tudi na stik med zarodkom in posteljico.

Ponavljača se odkritja bakterij v mekoniju se večkrat uporabljajo kot dokaz v podporo hipoteze o znotrajmaternični kolonizaciji. Vendar pa le majhen delež mekonijev vsebuje

bakterije, ki jih je mogoče dokazati. Tudi če jih odkrijejo, je prisotnost bakterij v prvem iztrebku novorojenca lahko posledica poporodne kolonizacije, še posebej če je mekonij izločen dolgo časa po porodu. Poskusi na mikrobih prostih miših so pokazali, da je bakterijska kolonizacija hitra, lahko že osem ur po izpostavitvi miši običajnemu bivališču, število bakterij pa je bilo podobno kot pri normalnih miših po 24 urah. Na podlagi tega so predvidevali, da je mogoče pričakovati tudi hitro kolonizacijo črevesja novorojenca (Perez-Muñoz in sod., 2017). Hansen in sodelavci (2015) trdijo, da tako imenovani interval kolonizacije mekonija od predrtja plodovih ovojnici med porodom do izločanja mekonija omogoči pomnoževanje bakterij. To hipotezo potrjuje dejstvo, da so večkrat dokazali povečanje bakterijske kolonizacije v odvisnosti od časa po porodu, ko je bil mekonij izločen, kar tudi kaže na zunajmaternično kolonizacijo novorojenca.

Sestava prve mikrobiote novorojenca podpira paradigma sterilne maternice. Če sta zarodkovo okolje in zarodek sam sterilna, je prvi stik z bakterijami odvisen od tipa poroda in okoljske izpostavitve, ki mu sledi. Pri vaginalnem porodu se ta izpostavitev zgodi v porodnem kanalu. Tega koraka ni pri carskem rezu in tako bi tip poroda močno vplival na sestavo mikrobiote. Če bi bila prva mikrobiota pridobljena že v maternici, bi morala biti populacija bakterij v črevesju novorojenca podobna kot v posteljici, njena prisotnost pa ne bi bila odvisna od tipa poroda. Nekatere raziskave kažejo, da mekonij vsebuje bakterije, podobne tistim v amnijski tekočini, in avtorji menijo, da bi lahko bila kolonizacija črevesja zarodka posledica zaužitja amnijske tekočine. Večina virov kaže na to, da na sestavo prve črevesne mikrobiote močno vpliva tip poroda, kasneje pa prevladujejo značilne črevesne bakterije, medtem ko so bakterije fetalnega okolja odsotne. V več raziskavah so ugotovili precejšnje razlike v raznolikosti in sestavi zgodnje mikrobiote glede na vrsto poroda. Zgodnja mikrobiota novorojencev pri vaginalnem porodu je bila podobna tisti v nožnici, medtem ko je bila pri carskem rezu podobna kožni mikrobioti. Domiguez-Bello s sodelavci (2010) je dokazal, da v mikrobioti novorojencev pri vaginalnem porodu prevladujejo bakterije iz rodov *Lactobacillus*, *Prevotella* in *Sneathia*, ki so jih našli tudi v nožnici mater. Nasprotno so v črevesju novorojencev pri carskem rezu prevladovale kožne komenzalne bakterije iz rodov *Staphylococcus*, *Corynebacterium* in *Cutibacterium*.

Bäckhed in sodelavci (2015) so ugotovili, da v črevesni mikrobioti novorojencev, rojenih s carskim rezom, prevladujejo kožne bakterije in bakterije iz ustne votline, pa tudi okoljske bakterije. Pri novorojencih, rojenih z vaginalnim porodom, je črevesna mikrobiota obogatena z

običajnimi črevesnimi bakterijami iz rodov *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Parabacteroides* in *Escherichia/Shigella*. Pri vaginalnem porodu so v črevesni mikrobioti matere izsledili izvor 72 % zgodnjih kolonizacijskih bakterij, pri carskem rezu pa le v 41 %.

Večina raziskav kaže, da vrsta poroda močno vpliva na sestavo mikrobiote pri novorojencu, medtem ko ni poročil o bakterijah, ki izvirajo v placenti oz. amnijski tekočini in bi bile neodvisne od vrste poroda. Rezultati podpirajo domnevo, da je črevesje novorojenca sterilno, med porodom in po njem pa ga naselijo bakterije iz okolja (Perez-Muñoz in sod., 2017).



Slika 3: Kultura *E. coli* na krvnem agarju (Lepen, 2017)

Picture 3: Culture of *E. coli* on nutrient agar plates supplemented with 5% of sheep blood (Lepen, 2017)

2.7.2.6 Disbioza in okužbe v povezavi z zapleti nosečnosti

Zapleti nosečnosti, kot so preeklampsija, eklampsija, intrauterina smrt zarodka, intrauterina omejitev rasti, prekinitev posteljice in prezgodnji porod, se pojavijo pri približno eni od šestih nosečnosti in lahko negativno vplivajo na zdravje in preživetje tako matere kot tudi zarodka. V mnogih primerih vzrok zapleta ni znan. Že dolgo se domneva, da so bakterijske okužbe povezane z zapleti med nosečnostjo in jih morda celo povzročajo. Z razmahom raziskovanja mikrobiote in s spoznanjem, da pride med nosečnostjo do sprememb v sestavi mikrobiote, se je

pojavilo vprašanje, ali obstaja povezava med prisotnimi bakterijskimi združbami in nemoteno nosečnostjo.

Romero s sodelavci (2014) pri nosečnicah ni odkril povezave med raznolikostjo mikrobiote v nožnici in izidom nosečnosti, medtem ko so v dveh raziskavah večjo raznolikost povezali s prezgodnjim porodom.

DiGiulio s sodelavci (2015) je v zgodnji nosečnosti v nožnici identificiral bakterijske združbe, ki so povezane z večjim tveganjem za prezgodnji porod. Za te združbe je značilna večja številčnost bakterij iz rodov *Ureaplasma* in *Gardnerella*, osiromašenje rodu *Lactobacillus* in večja raznolikost bakterij. Nenormalne spremembe v sestavi mikrobiote nožnice med nosečnostjo lahko vodijo v okužbo, produkcijo provnetnih citokinov in prostaglandinov, kar lahko sproži krčenje maternice in oslabitev zarodkovih ovojnic (Park in sod., 2005; Lajos in sod., 2008). Tudi prisotnost nekaterih gliv, kot je kolonizacija nožnice s kvasovko *Candida albicans* (tudi kadar je asimptomatska), je povečana z večjim deležem prezgodnjih porodov (Farr in sod., 2015).

Tudi disbioza črevesja matere lahko posredno povzroči zaplete med nosečnostjo (Zhang in sod., 2015).

V več raziskavah so ugotovili povezavo med okužbami ustne votline in zapleti med nosečnostjo (Zi in sod., 2014). Dokazali so, da parodontalna bolezen pri materi povečuje tveganje za prezgodnji porod (Offenbacher in sod., 2006). Ena od teorij je, da lipopolisaharidi po Gramu negativnih periodontopatogenih bakterij, kot je *Porphyromonas gingivalis*, povečajo produkcijo vnetnih mediatorjev in prostaglandinov, kar vodi v prezgodnji porod (ElAttar, 1976; Kim in Amar, 2006). Po alternativni teoriji se prezgodnji porod sproži po hematogenem prenosu ustnih bakterij v posteljico (Aagard in sod., 2015).

S kopičenjem dokazov, ki potrjujejo obstoj mikrobiote posteljice, se je pojavilo vprašanje, ali se te bakterijske združbe razlikujejo pri normalnih nosečnostih in prezgodnjih porodih (Nuriel-Ohayon, 2016). Pri prezgodnjih porodih so ugotovili večjo pojavnost določenih bakterijskih rodov, kot so *Burkholderia*, *Streptosporangium* in *Anaeromyxobacter*. Pri porodih ob roku je bil v posteljici večji delež bakterij iz rodu *Paenibacillus* (Romero in sod., 2014a). S histološkimi barvanji pa niso ugotovili razlik med posteljicami prezgodnjih porodov in porodov ob roku (Stout in sod., 2013).

2.7.3 MIKROBIOM PSOV

Z razvojem in razširtvijo uporabe molekularnih tehnik so se v zadnjem desetletju odprle nove možnosti za natančno določanje bakterij, ki sestavljajo pasji mikrobiom. Za prepoznavanje in določanje bakterij se danes uporablja predvsem molekularne tehnike, katerih tarča je gen za 16S ribosomske RNA. Ta gen je prisoten pri vseh prokariontih in vsebuje regije, ki so ohranjene pri vseh vrstah, ter tudi tiste, ki so značilne le za posamezno vrsto.

Tehnike sekvenciranja DNA, ki uporablja visoko zmogljive sekvenatorje, omogočajo lažje ugotavljanje in razvrščanje mikrobov. Te tehnike se uporablja, kadar želimo določiti celotno mikrobno pestrost (mikrobiom) npr. gastrointestinalnega trakta, ust, nožnice, kože in drugih delov telesa pri ljudeh in različnih živalskih vrstah (Hooda, 2012).

Pri psih je že delno raziskana bakterijska mikrobiota gastrointestinalnega trakta in iztrebkov (Hooda, 2012; Deng, 2015; Suchodolski, 2011; Garcia-Mazcorro, 2012), dihal (pljuč in nosne votline) (Tress, 2019; Ericsson, 2016), kože (tudi sluhovoda) (Rodrigues Hoffmann, 2014; Suttiwe, 2019; Ngo, 2018; Korbelik, 2019), ustne votline (McDonald, 2016; Oh, 2016), nožnice (Hutchins, 2014), maternice (Lyman, 2019), očesnih veznic (Leis, 2019) in urinarnega sistema (Burton, 2017).

Raziskuje se mikrobiom zdravih živali in spremembe ozziroma posebnosti pri posameznih bolezenskih stanjih.

2.7.3.1 Mikrobiota ustne votline psov

O mikrobioti ustne votline psov je objavljenih veliko manj raziskav kot o mikrobioti pri ljudeh, se pa je z uvedbo molekularnih metod in raziskovanja človeške mikrobiote povečalo tudi zanimanje za mikrobioto pri psih. Mikrobioti ustne votline psov so že raziskovali tako z gojiščnimi preiskavami kot tudi z molekularnimi metodami. Bakterije ustne votline psov, ki jih je mogoče vzgojiti na gojiščih, so raziskovali Elliot in sodelavci (2005). Izolirane bakterije so identificirali s primerjalnim sekvencirajem gena za 16S rRNA. Iz vzorcev slin in zognega plaka so pridobili 339 bakterijskih izolatov, ki so pripadali 84 različnim filogenetskim skupinam (filotipom) iz 37 različnih rodov. 52 % filotipov niso uspeli identificirati. Iz plakov so najpogosteje izolirali bakterije iz rodov *Porphyromonas* (20 %), *Actinomyces* (12 %) in *Neisseria* (10 %).

Riggio in sodelavci (2011) so raziskovali mikrobioto ustne votline pri zdravih psih in psih z vnetjem dlesni in s paradontalno boleznijo. Pri paradontalno zdravih psih so z molekularnimi

metodami najpogosteje ugotovili bakterije iz rodov *Pseudomonas*, *Bergeyella*, *Serratia*, *Virgibacillus* in *Acinetobacter*, od tega je bilo 7,9 % bakterij takih, ki jih ni mogoče izolirati na umetnih gojiščih.

Dewhirst in sodelavci (2012) so raziskovali mikrobioto ustne votline psov s sekvenciranjem gena za 16S rRNA. V vzorcih subgingivalnega plaka 51 psov so identificirali bakterije iz 14 različnih debel, 23 razredov, 37 redov, 66 družin in 148 rodov, od tega je bilo 80 % do takrat še neimenovanih taksonov. Največ bakterijskih izolatov je pripadalo deblu *Firmicutes* (162), v katerem je prevladoval razred *Clostridia* s 138 vrstami, sledil je razred *Bacilli* z 18 vrstami. Drugo najpogosteje izolirano deblo je bilo *Proteobacteria*, sledili sta debli *Bacteroidetes* in *Spirochaetes*. Najpogosteje zastopani bakterijski rodovi so bili *Granulicatella*, *Peptococcus*, *Clostridia spp.*, *Peptostreptococcus*, *Catonella*, *Brachymonas*, *Neisseria*, *Moraxella* in *Porphyromonas*.

Davis s sodelavci (2013) je z metodo pirosekvenciranja raziskoval bakterijske vrste v plaku pri zdravih psih in psih z gingivitisom ter blagim paradontitisom. Vzorčili so subgingivalni plak pri 223 psih, od tega je bilo 72 psov z zdravimi dlesnimi. Ugotovili so, da pri zdravih psih prevladujejo po Gramu pozitivne aerobne bakterije. Najpogosteje izolirana bakterijska debla so bila *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Firmicutes* in *Actinobacteria*, iz njih 26 najpogosteje izoliranih bakterijskih vrst pa je predstavljalo 49,8 % vseh sekvenc. Iz subgingivalnega plaka psov z zdravimi zobmi so najpogosteje izolirali bakterijske vrste iz rodov *Moraxella sp.*, *Bergeyella (B. zoohelcum)*, *Neisseria (N. shayeganii)* in *Pasteurella sp.*

Sturgeon (2014) je raziskovala relativni delež posameznih bakterijskih debel in rodov, bakterijsko raznolikost in zoonotični pomen bakterij v ustni votlini zdravih psov. Iz vzorcev supragingivalnega plaka, jezika in zob šestih psov je z metodo pirosekvenciranja naslednje generacije gena za 16S sRNK najpogosteje identificirala deblo *Bacteroidetes* (60,2 %), sledila so mu debla *Proteobacteria* (20,8 %), *Firmicutes* (11,4 %), *Fusobacteria* (4,7 %) in *Spirochaetes* (1,7 %). Bakterije iz 15 rodov so predstavljale več kot 75 % razvrščenih sekvenc. Prevladovali so rodovi *Porphyromonas* (39,2%), *Fusobacterium* (4,5 %), *Capnocytophaga* (3,8 %), *Derxia* (3,7 %), *Moraxella* (3,3 %), *Bergeyella* (2,7 %), bakterije, ki jih ni mogoče izolirati na umetnih gojiščih iz rodu *Lachnospiraceae* (2,4 %), *Enhydrobacter* (2,2 %) ter nekласificirane bakterije iz rodov *Peptostreptococcus* (2,2 %), *Xylanibacter* (2,1 %), *Parabacteroides* (2,0 %), *Tannerella* (2,0 %), *Neisseria* (1,8 %), *Treponema* (1,6 %) in *Bacteroides* (1,6 %). Ugotovila je, da si vsi psi delijo tako imenovano osnovno mikrobioto, ki jo je sestavljalo 56 operacijskih

taksonomskih enot, ki so pripadale 38 bakterijskim rodovom. Pri vsakem psu je izolirala vsaj eno potencialno zoonotično bakterijsko vrsto; skupaj jih je bilo osem. Najpogosteje so bile *Capnocytophaga canimorsus*, *Capnocytophaga cynodegmi* in *Streptobacillus moniliformis*, izolirala je tudi *Arcobacter butzleri*, *Bergeyella zoohelcum*, *Enterococcus gallinarum*, *Pasteurella multocida* in *Staphylococcus pseudintermedius*. Pri vsakem od psov je izolirala tudi povzročitelje paradontalne bolezni.

Holcombe in sodelavci (2014) so z metodo pirosekvenciranja 16S rDNK identificirali bakterijske vrste, pomembne v začetni fazni nastanka plaka na zobeh psov. Vzorčili so supragingivalni plak 12 psov 24 in 48 ur po čiščenju zobnih oblog. Identificirali so bakterije iz debel *Proteobacteria* (32,1 %), *Bacteroidetes* (23,9 %), *Firmicutes* (20,9 %), *Actinobacteria* (14,9 %) in *Fusobacteria* (6,0 %). Prevladovale so bakterijske vrste *Bergeyella zoohelcum*, *Neisseria shayeganii*, *Moraxella sp.*, *Pasteurellaceae*, *Porphyromonas cangingivalis*, *Neisseria weaveri*, *Capnocytophaga sp.*, *Fusobacterium sp.* in *Pasteurella dagmatis*. Rodova *Bergeyella* in *Neisseria* sta predstavljala eno tretjino vseh bakterij v plaku.

Oh in sodelavci (2015) so s pirosekvenciranjem 16S rDNK vzorcev supragingivalnega in subgingivalnega dela zgornjega četrtega ličnika 10 psov izolirali 246 filotipov, v povprečju 71 na vzorec. Izolirali so bakterije iz debel *Proteobacteria* (25,7 %), *Actinobacteria* (21 %), *Bacteroidetes* (19,7 %), *Firmicutes* (19,3 %) in *Fusobacteria* (12,3 %). Številčno so bili najbolj zastopani rodovi *Actinomyces* (17,2 %), neidentificiran rod (16,8 %), *Porphyromonas* (14,8 %), *Fusobacterium* (11,8 %), *Neisseria* (7,2 %) in *Pasteurella* (4,9 %).

McDonald in sodelavci (2016) so z direktnim sekvenciranjem reverzno transkriptiranega gena za rRNA male podenote ribosoma (SSU rRNA) analizirali vzorce supragingivalnega plaka 20 psov. Najpogosteje so identificirali bakterijska debla *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* in *Spirochaetes*. Ta debla so predstavljala 92,5 % vseh bakterijskih rRNA male podenote ribosoma. Našli pa so tudi debla *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Fusobacteria*, *Synergistetes* in *Tenericutes*. 0,46 % vse SSU rRNA je predstavljala domena *Eukarya*, 87,9 % evkariotske SSU sRNA so predstavljali protozoji iz rodu *Trichomonas* (deblo *Metamonada*), ena sekvenca pa je pripadala rodu *Entamoeba* (deblo *Amoebozoa*).

2.7.3.2 Mikrobiota nožnice in maternice psic

V 20. stoletju (od leta 1954) je bilo objavljenih nekaj raziskav o bakterijski mikrobioti nožnice psic (Olson in Mather, 1978; Hirsch in Wiger, 1977; Ling in Ruby, 1978; Bjstrom in Linde-

Forsberg, 1992; Osbaldiston in sod., 1972; Laznicka, 1995; Platt in Simpson, 1974; VanDuijkeren, 1992). V teh raziskavah so uporabili gojiščne metode, vrste bakterij pa so določali s pomočjo citoloških barvanj, mikroskopiranja in biokemijskih testov. Pri zdravih psicah so najpogosteje izolirali naslednje aerobne bakterije: *Escherichia coli*, *Streptococcus canis*, *Pasteurella multocida*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, alfa-hemolitične streptokoke, beta-hemolitične streptokoke, *Bacillus sp.*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus intermedius* in *Staphylococcus sp.* Doig in sodelavci (1981) so pri 88 % psic izolirali bakterije iz rodu *Mycoplasma*, pri 51 % pa bakterije iz rodu *Ureaplasma*.

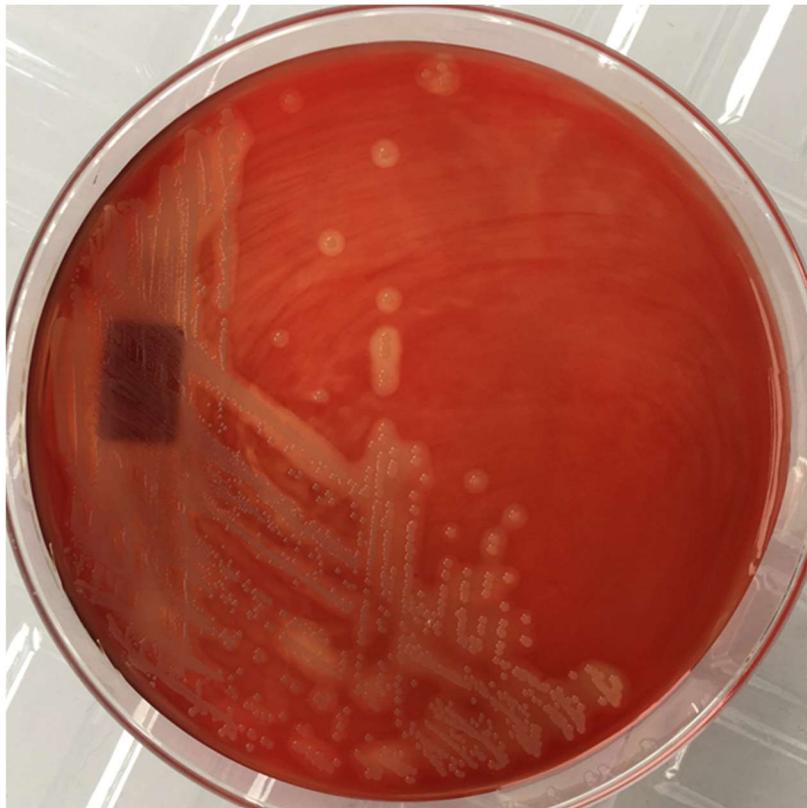
Do leta 2015 so objavili še nekaj raziskav, v katerih so za izolacijo bakterij uporabljali gojiščne metode, identificirali so jih na podlagi mikroskopskih morfoloških in biokemijskih značilnosti (Laurusevičius in sod., 2008; Gunay in sod., 2010; Gropetti in sod., 2011; Hutchins in sod., 2014; Maksimović in sod., 2015). Najpogosteje so pri zdravih psicah izolirali bakterije iz rodov *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* in *Proteus* ter vrsti *Escherichia coli* in *Pseudomonas aeruginosa*. V večini raziskav so kulture inkubirali le v aerobnih pogojih, le Hutchins in sodelavci (2014) so jih inkubirali tudi v mikraerofilnih in anaerobnih pogojih. Slednji so nekaj izolatov identificirali tudi s sekvenciranjem 16S rDNK. Na Rogosa agarju so izolirali po Gramu pozitivne bakterije, ki so bile kasneje identificirane kot *Enterococcus caniintestini*.

Lyman in sodelavci (2019) so s sekvenciranjem 16S rDNK raziskovali mikrobioto nožnice in maternice psic. Vzorčili so 50 psic v različnih stadijih reprodukcijskega cikla. Odvzeli so bris kranialnega dela nožnice in biot maternice med elektivno ovariohisterektomijo. Ugotovili so, da je mikrobiota nožnice najbolj raznolika in bogata v času estrusa, ta razlika pa je bila statistično značilna le med estrusom in obdobjem pred prvo gonitvijo. V vzorcih nožnice so prevladovale bakterije iz debel *Bacteroidetes* (34,3 %), *Proteobacteria* (26,2 %), *Tenericutes* (15 %) in *Firmicutes* (12,9 %); 59,4 % bakterij je pripadalo rodovom *Hydrotalea*, *Ralstonia* in *Mycoplasma*. Druga dva pogosta rodova sta bila *Fusobacterium* in *Streptococcus*. V nobenem vzorcu niso našli bakterij *Escherichia coli*. Za razliko od prejšnjih raziskav, ki so temeljile na gojiščnih metodah, je v tej raziskavi rod *Streptococcus* predstavljal le 4,4 %, *Staphylococcus* 1,5 % in *Enterococcus* 0,006 % populacije bakterij. Bakterije iz rodu *Proteus* so izolirali le iz endometrija. Rod *Lactobacillus*, ki pri ljudeh predstavlja od 70 do 100 % mikrobiote nožnice (Franasiak in Scott, 2015; MacIntyre in sod., 2015; Huttenhowe in sod., 2012), je predstavljal le 0,03 % populacije, kar bi lahko pripisali nevtralnemu do alkальнemu pH nožnice psic.

Prevladajočemu rodu *Hydrotalea* je pripadalo več kot 25 % identificiranih bakterij. Rod *Hydrotalea* spada v deblo *Bacteroidetes*, predstavnice tega rodu so poznane kot vodne vrste (Kämpfer in sod., 2011). Vrste iz rodu *Ralstonia* (deblo *Proteobacteria*) so predstavljale 20,8 % bakterij, ki so jih zaznali v nožnici. Navadno ga ne povezujejo z živalmi, nobena od vrst iz tega rodu ni poznana kot patogena. Do sedaj bakterij iz rodu *Ralstonia* niso našli v zdravi nožnici sesalcev, so jih pa našli v nizki koncentraciji pri ženskah, ki so imele vstavljeni maternične vložke z levonorgestrelom (Jacobson in sod., 2014) in pri ženskah s klinično vaginozo (Xia in sod., 2016). Tretji najpogosteje izoliran rod je bil *Mycoplasma*. Čeprav so bile bakterije iz tega rodu prisotne v vseh vzorcih, niso poznane kot glavni predstavniki mikroflore zdrave nožnice ljudi in živali (Ljubin-Sternak in Meštrović, 2014). Že desetletja pa poročajo o prisotnosti mikoplazem in njihovi vlogi pri bakterijski vaginozi in drugih boleznih rodil pri ljudeh (Xia in sod., 2016; Waites in sod., 2005). Pri psicah z bakterijo in pri zdravih psicah so jih iz nožnice izolirali po aplikaciji ampicilina in trimetoprim-sulfametoksazola (Ström in Linde-Forsberg, 1993; Doig in sod., 1981).

Lyman in sodelavci (2019) so raziskovali tudi mikrobioto endometrija. Ugotovili so, da so rodovi bakterij, ki sestavljajo mikrobioto endometrija, zastopani bolj enakomerno kot v nožnici. Mikrobiota endometrija je bila bolj raznolika kot mikrobiota nožnice. Primerjali so tudi mikrobioto maternice in nožnice pri petih psicah v estrusu. Pri nobeni od psic niso odkrili povezave med mikrobiotama, kar kaže na to, da ima endometrij svojo lastno mikrobioto, ki ne nastane kot posledica ascendentne okužbe iz nožnice. V maternici so prevladovala bakterijska debla *Proteobacteria* (38,8 %), *Firmicutes* (26,2 %), *Actinobacteria* (18,2 %) in *Bacteroidetes* (9,4 %). Prevladajoči bakterijski rodovi so bili *Pseudomonas* (9,9 %), *Staphylococcus* (6,5 %) in *Corynebacterium* (5,8 %). Nobena bakterijska vrsta ni predstavljala več kot 10 % populacije. Primerjali so sestavo mikrobiote maternice pri psicah s sestavo mikrobiote maternice ljudi in goveda. Ugotovili so različno zastopanost posameznih bakterijskih debel med vrstami živali, kar kaže na to, da je osnovna mikrobiota maternice vrstno specifična. Raziskovalci so s pomočjo gojiščnih metod že poskušali izolirati bakterije iz endometrija psic (Olson in Mather, 1978; Baba in sod., 1983; Schultheiss in sod., 1999; Maksimović in sod., 2012). Njihov uspeh je bil od 3,8 % (Olson in Mather, 1978) do 62,5 % (Maksimović in sod., 2012), kar kaže na dejstvo, da večine bakterij, ki sestavljajo mikrobioto endometrija, ni mogoče gojiti z uporabo običajnih tehnik. V teh raziskavah so najpogosteje izolirali bakterije iz rodov *Staphylococcus*, *Mycoplasma* in *Streptococcus*. Bakterije iz rodov *Staphylococcus* in *Streptococcus* je enostavno

gojiti na umetnih gojiščih in so bile verjetno zaradi tega pogosteje izolirane. V raziskavi, ki so jo objavili Lyman in sodelavci (2019), je bil rod *Staphylococcus* drugi najpogosteje identificiran, *Streptococcus* in *Mycoplasma* sta imela veliko nižjo prevalenco. Najpogostejši je bil rod *Pseudomonas*, ki so ga identificirali iz vseh vzorcev endometrija. Bakterije iz tega rodu so lahko povezane s pojavom gnojnega vnetja maternice pri psicah (Hagman, 2018), niso pa ga še našli v endometriju zdavih psic.



Slika 4: Kultura *S. aureus* na krvnem agarju (Dodič, 2017)

Picture 3: Culture of *S. aureus* on nutrient agar plates supplemented with 5% of sheep blood (Dodič, 2017)

2.7.3.3 Mikrobiota mekonija in posteljice psov

Po naših podatkih še ni objavljenih raziskav, ki bi opisovale mikrobioto posteljice in mekonija novorojenih psov.

2.8 OCENA PO APGARJEVI

Leta 1952 je zdravnica in anesteziologinja Virginia Apgar razvila edinstven in zanesljiv sistem za oceno stanja novorojencev tik (60 sekund) po porodu (Apgar, 1953). To metodo je razvila po opazovanju novorojencev, ki so se po rojstvu borili za življenje in bili prepuščeni smrti.

Želela je, da bi zdravniki te novorojence čim prej prepoznali in jim pomagali. Njeno metodo, imenovano ocena po Apgarjevi, so hitro sprejeli v mnogih državah (Skolnick, 1996).

Pri ljudeh ima ocena po Apgarjevi pet parametrov, ki jih lahko, brez poseganja v oskrbo otroka, ovrednotimo ob rojstvu. Najprej se je imenovala po izumiteljici, v letu 1963 pa so črkam v besedi APGAR dodali pomen za lažje pomnenje znakov: A za izgled (angl: appearance), P za pulz (angl: pulse), G za izraz na obrazu (angl: grimace), A za aktivnost (angl: activity) in R za dihanje (angl: respiration). Vsak izmed znakov se oceni z 0–2 točkama. Točke se seštejejo, zato lahko ocena po Apgarjevi rezultira v 0–10 točkah. Test se opravi prvo in peto minuto po rojstvu in se lahko ponovi tudi kasneje pri novorojencih z nizko oceno. Ocena manj kot 3 je kritična, od 4 do 6 je nizka, več kot 7 pa je normalna (Apgar in James, 1962; Finster in Wood, 2005).

Nizka ocena pomeni, da novorojenec čim hitreje potrebuje zdravniško pomoč. Če se ocena izboljša v naslednjih nekaj minutah, večinoma ne nastanejo kasnejše težave. V primeru, da je ocena po desetih minutah še vedno nizka, to lahko predstavlja pomemben faktor tveganja poznejše smrti ali invalidnosti (Harrington in sod., 2007).

Tabela 1: Praktična tabela za ocenjevanje po Apgarjevi iz leta 1962 (Butterfield in Covey, 1962)

Table 1: Practical evaluation table according to Apgar from 1962 (Butterfield in Covey, 1962)

| ZNAK | | OCENA | | |
|------|----------------------------|----------------|-----------------------------|---------------------|
| | | 0 | 1 | 2 |
| A | izgled/apperarance (barva) | bledo modro | telo roza, okončine modre | roza |
| P | pulz/pulse | odsoten | pod 100 | nad 100 |
| G | izraz na obrazu/grimace | ni odziva | obrazna mimika prisotna | jok |
| A | aktivnost/activity | mlahavo | upogibanje okončin prisotno | aktivno gibanje |
| R | dihanje/respiration/ | odsotno | počasno, nereditno | dober, močan jok |

Oceno po Apgarjevi so začeli uporabljati tudi v veterinarski medicini zaradi njene uporabnosti (uporablja se samo stetoskop), zanesljivosti in ocenjevanja kratkoročnega preživetja. Številni raziskovalci so začeli uporabljati oceno Apgar pri žrebetih, teličkih in pujskih. Do leta 2009 se ocena po Apgarjevi v pasji reprodukciji ni uporabljala, zato so Veronesi in sod. 2009 ustvarili

modificirano oceno Apgar za ocenjevanje vitalnosti pasjih mladičev. Menili so, da sta ekonomična vrednost pasjih mladičev in vpletenost lastnikov v reprodukcijske procese pripeljali do povečanega interesa za preživetje mladičev. Vseh pet parametrov, ki jih je predlagala Virginia Apgar pri novorojencih, so prilagodili glede na pasje fiziološke parametre (Veronesi in sod., 2009; Veronesi, 2016).

Tabela 2: Modificirana ocena po Apgarjevi za vrednotenje vitalnosti pasjega novorojenca (Veronesi in sod., 2009)

Table 2: A modified Apgar score for evaluation of the vitality of a newborn dog (Veronesi in sod., 2009)

| PARAMETER | OCENA | | |
|-------------------------|-------------------------|-----------------------------|----------------------|
| | 0 | 1 | 2 |
| barva sluznic | cianotične | blede | rožnate |
| srčni utrip | < 180 utripov/min | 180–220 utripov/min | > 220 utripov/min |
| refleks draženja | odsoten | delno prisoten | močan |
| gibljivost | mlahavost | upogibanje okončin prisotno | aktivno gibanje |
| dihanje in vokalizacija | < 6 vdihov/min, ne joče | 6–15 vdihov/min, rahel jok | > 15 vdihov/min, jok |

Vitalnost pasjih mladičev se lahko ocenjuje tudi z opazovanjem določenih vedenjskih parametrov in refleksov novorojencev. Ocenujemo sesalni refleks, odrivni refleks (angl. rooting reflex) in refleks vrnitve v osnovni položaj (angl. righting reflex). Vsi refleksi se točkujejo z 0–2 točkama. Hkratno ocenjevanje po Apgarjevi in opazovanje refleksov je smotrno, saj lahko s to kombinacijo bolje ovrednotimo vitalnost pasjega novorojenca (Vassalo in sod., 2015).

Tabela 3: Ocenjevanje neonatalnih refleksov (Vassalo in sod., 2015)

Table 3: Assessment of neonatal reflexes (Vassalo in sod., 2015)

| REFLEKS | OCENA | | |
|-----------------------------------|---------|-----------------------------------|---------------------------------|
| | 0 | 1 | 2 |
| Sesalni | odsoten | šibek ($> 3/\text{min}$) | močan ($> 5/\text{min}$) |
| Odrivni | odsoten | počasi | takoj |
| Refleks vrnitve v osnovni položaj | odsoten | počasna vrnitev v osnovni položaj | hitra vrnitev v osnovni položaj |

Veronesi in sodelavci (2009) ter Doebeli in sodelavci (2013) priporočajo prvo vrednotenje vitalnosti v 5 minutah po rojstvu, drugo po 15 minutah in tretjo po 60 minutah. Nekateri drugi avtorji ocenjujejo novorojence ob rojstvu, po 5 minutah in po 60 minutah (Lucio in sod., 2009; Silva in sod., 2009).

Zanesljivost rutinskega ocenjevanja po Apgarjevi in vrednotenje vitalnih znakov novorojenih pasjih mladičev kaže tudi novejša raziskava Titkove in sodelavcev, kjer je bila smrtnost pasjih mladičev znatno manjša kot v starejših raziskavah (Titkova in sod., 2017). Rutinska uporaba ocene Apgar omogoča prepoznavanje slabotnih novorojencev in hitro ukrepanje ob njihovi slabi oceni (Batista in sod., 2014).

2.9 PRIRAST MLADIČEV IN NJIHOVO PREŽIVETJE V PRVIH TEDNIH ŽIVLJENJA

Pasji mladiči se skotijo fiziološko nezreli in so popolnoma odvisni od psice (Münnich, 2008). Skotijo se slepi in gluhi. Njihovi gibi so počasni in tresoči, odzivi na dražljaje se pojavijo komaj nekaj sekund po stimulaciji. Če jih prestavimo od matere, se mladiči že pri rojstvu priplazijo nazaj do nje. Ko so lačni ali jih zebe, se oglašajo. Glavne potrebe v tem obdobju so toplota, hrana (mleko) in izločanje (uriniranje in defekacija). Matere jih stimulirajo za uriniranje in defekacijo z lizanjem genitalne in analne (s skupnim imenom perinealne) regije. Veliko jih nosijo okrog in tako spodbujajo mladiče k raziskovanju. Obnašanje se spremeni po 14 dneh, ko odprejo oči, še bolj pa pri treh tednih, ko začnejo bolje dojemati okolico okrog sebe (Scott, 1958).

Zaradi slabo razvitih mehanizmov termoregulacije so mladiči v neonatalnem obdobju zelo dovzetni za hipotermijo. Niso zmožni periferne vazokonstrikcije, poleg tega na nizko

temperaturo ne odgovorijo s tresenjem. Imajo močno potrebo po energiji, vendar majhno zалого, saj imajo malo bele mašcobe. Ker so njihova jetra nerazvita, so neučinkovita pri hitrem pridobivanju energije. To velikokrat vodi v nastanek hipoglikemije. Tudi ledvice ob rojstvu niso popolnoma razvite in zato hitreje dehidrirajo. K temu dodatno pripomore dejstvo, da imajo visok odstotek vode v telesu (82 %) v primerjavi z odraslimi. Potrebe po vodi so večje, saj prihaja do večje izgube skozi pljuča in kožo zaradi velikega razmerja med površino in prostornino (Tønnessen in sod., 2012).

Porodna teža mladičev variira glede na pasmo (75–700 g). V normalnih pogojih mladiči v prvem tednu življenja podvojijo rojstno težo. Dnevno pridobijo 2–4 g/dan/kg pričakovane odrasle teže (Kirk, 2001). Indrebø in sodelavci (2007) so ugotovili, da je bila rojstna teža mladičev, ki so poginili v prvem tednu življenja, bistveno nižja kot pri tistih, ki so ostali živi do osmega tedna starosti. Glede na povprečno telesno maso mladičev ob rojstvu, se je ta povečala za 24 % pri treh dneh starosti, pri sedmih dneh starosti za 83% in pri 14 dnevih za 189 %.

Dolžina neonatalnega obdobja pri psih splošno ni določena, vendar jo večinoma opredeljujejo kot prve 2–3 tedne življenja (Fisher, 1982; Indrebø in sod., 2007). Perinatalna (obporodna) smrtnost je delež mrtvih plodov in mladičev, ki so poginili ob rojstvu. Pri ljudeh je perinatalna smrtnost definirana kot vsota smrti plodov, mrtvorjenih in smrti pri novorojencih. Neonatalna smrtnost pa se obravnava kot zgodnja in pozna neonatalna smrtnost. Zgodnja smrtnost nastopi v času od rojstva do 7. dneva, pozna pa od 7. do 28. dneva starosti mladiča (Tønnessen in sod., 2012). Perinatalna smrtnost pri psih je relativno visoka in znaša 5–35 % (Mosier, 1982; Poffenbarger in sod., 1990). Stopnja smrtnosti je najvišja ob rojstvu in v prvem tednu življenja (Tønnessen in sod., 2012). Glavni vzrok neonatalne smrtnosti je respiratori distres, najpogosteje zaradi distocije in bakterijskih okužb ter znaša 15–25 % (Concannon, 2002). Obstaja sum, da sta okolje in psica (vaginalni izcedek, mleko, feces, orofarinks, koža) najpogostejši vir okužbe za mladiče, podobno kot pri ljudeh (Mellert, 2004; Münnich in Lübke-Becker, 2004; Zakošek Pipan in sod., 2019).

V prvih treh tednih je raven neonatalne smrtnosti močno spremenljiva in odvisna od različnih dejavnikov. Med pomembnejšimi so kakovost poroda, prirojene napake, okolje novorojenca ter prirojene in pridobljene bolezni (Moon in sod., 2001; Davidson, 2003). Vzroki za visoko smrtnost v perinatalnem obdobju so kompleksni in so lahko povezani z materjo (slaba skrb za mladiče, zmanjšana produkcija mleka, travma), mladiči (nizka obporodna teža, prirojene

napake, stradanje), lahko so tudi posledica vplivov okolja in prisotnosti kužnih agensov (Tønnesen in sod., 2012).

2.10 KOLOSTRUM IN NJEGOV POMEN

Pri mesojedih je preživetje novorojencev v prvih treh tednih življenja še posebej odvisno od kolostruma ali mleziva, specifičnega izločka mlečne žleze v prvih dveh dneh po porodu (Chastant-Maillard in sod., 2016). Ker kolostrum zagotavlja hranila in protitelesa, je to ključnega pomena za novorojence, saj so ob rojstvu skoraj brez njih (Bouchard in sod., 1992). Za zmanjševanje neonatalne smrtnosti sta pomembni kakovost prenosa pasivne imunosti (vrednoteno s koncentracijo IgG pri starosti 2 dni) in količina zaužite energije (vrednoteno z rastjo med rojstvom in starostjo 2 dni) (Mila in sod., 2015a; Mila in sod., 2014). Kolostrum ima znatno višjo koncentracijo imunoglobulinov G (IgG) kot mleko: 20–30 g/L in pri mleku <1–5 g/L (Schäfer-Somi, 2005). Protitelesa razreda IgG iz krvnega obtoka matere se v zadnjih tednih brejosti ujamejo v celicah mlečne žleze s fiksacijo na specifične receptorje FcRn in se tako akumulirajo. Pri porodu se IgG masivno sprostijo v kolostrum, ki ima tako od tri- do štirikrat višjo koncentracijo IgG kot materina kri (Claus in sod., 2006; Mila in sod., 2015b). Kljub visokim vrednostim koncentracija IgG po porodu hitro pada in se v prvih 24 urah zmanjša za 50 %, sedmi dan pada na ~5 g/L in do <1 g/L v 14. dnev (Albaret, 2016; Claus in sod., 2006; Schäfer-Somi in sod., 2005).

Absorbcija imunoglobulinov iz črevesja pasjega novorojenca je možna, saj to še ni popolnoma razvito. Ob rojstvu se lahko iz črevesja absorbira 40 % imunoglobulinov. Hitro po rojstvu se začnejo vzpostavljati tesne stičnice med enterociti in dozorevati pričnejo črevesni vili, ki po štirih urah po rojstvu omogočajo absorbijeo le še 20 % imunoglobulinov. Po 16 urah se črevesna bariera popolnoma zapre, zato prehod imnuglobulinov ni več možen (Chastant-Maillard in sod., 2012). Zgodnje sesanje je pomembno za pridobitev pasivne imunosti, saj koncentracija imnuglobulinov v kolostrumu hitro pada, hkrati pa se zapre tudi črevesna bariera (Chastant-Maillard in sod., 2016).

Kolostrum zagotavlja tudi druge sestavine z imunsko vlogo: nespecifične antibakterijske faktorje, kot sta laktoferin in lizocim, ki sta skupaj s citokini vključena v imunski odziv in aktivacijo krvnih celic. Prav tako vsebuje bele krvne celice (makrofage, nevtrofilce, limfocite), ki se absorbirajo preko črevesja v krvni obtok novorojencev, preden se zapre njihova črevesna bariera. Imajo pomembno vlogo v celični, humoralni in lokalni imunosti. Mucin, laktoferin in

oligosaharidi prav tako preprečujejo pritrditev patogenov na enterocite (Stelwagen in sod., 2009). Kolostrum vsebuje znatne količine določenih hormonov (kortizol, inzulin, tiroksin, rastni faktor) in številne druge rastne faktorje (IGFs (insulin-like growth factors), EGF (epidermal growth factor), NGF (nerve growth factor)), ki so vpleteni v razvoj in zorenje številnih organov (prebavni trakt, jetra, trebušna slinavka, ščitnica) (Heird in sod., 1984).

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI

V raziskovalno nalogu je bilo vključenih 96 mladičev, ki so se skotili 17 psicam različnih starosti, ki so pripadale 14 različnim pasmam. Tri psice so v času naše raziskave kotile dvakrat, zato je bilo skupno število porodov 20. Vse psice so bile lastniške. Lastniki so bili s potekom raziskave seznanjeni, z njim so se strinjali in so pred odvzemom vzorcev ter pred porodom podpisali tudi izjavo o sodelovanju v raziskavi (Priloga 1– Izjava o sodelovanju v raziskavi). Raziskovalno delo na živalih je odobrila komisija za dobrobit živali Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani, ki je tudi potrdila, da soglasje Etične komisije za poskuse na živalih ni potrebno.

V raziskavo so bile vključene psice, ki smo jih spremljali že med brejostjo. Carski rez je bil opravljen elektivno v primeru, da je pri psici obstajalo tveganje za vaginalni porod, ali urgentno, kadar porod ni potekal normalno in je prišlo do distocije.

3.2 METODE

3.2.1 Carski rez

3.2.1.1 Prvi pregled in pregled pred kirurškim posegom

Najprej smo pri lastnikih odvzeli anamnezo o splošnem zdravstvenem stanju živali, prehranskih navadah, cepljenju, kontroli proti zunanjim in notranjim parazitom, času zadnjega obroka, predhodnih boleznih in zdravljenjih ter podatke o morebitnih prejšnjih kirurških posegih in odzivih na anestezijo. Po tem smo naredili splošni klinični pregled. Izmerili smo periferni pulz, frekvenco dihanja, rektalno telesno temperaturo in avskultirali srce in pljuča. Preverili smo tudi barvo sluznic in veznic ter izmerili čas polnjenja kapilar.

Z namenom določanja predoperativnega zdravstvenega stanja smo psicam iz periferne vene, bodisi cefalne (*vena cephalica*) ali safenske (*vena saphena*), odvzeli kri za pridobitev splošne krvne slike s hematološkim analizatorjem ADVIA® 120 (Siemens; München, Nemčija) in za plinsko analizo krvi z napravo VetScan i-STAT® 1 (Abaxis; Union City; Kalifornija). Pred pripravami na kirurški poseg smo vstavili intravensko kanilo primerne velikosti v levo ali desno cefalno veno.

3.2.1.2 Anestezija

Breje živali smo preoksigenirali s 100 % kisikom 15 minut pred uvodom v anestezijo. V tem času smo jih pobrili po trebuhu, oprali z blagim milom (Plivasept, Pliva, Zagreb, Hrvaška), sprali s toplo vodo, osušili in razkužili s klorheksidinom (Spitaderm, Ecolab, Saint Paul, Minnesota).

Uvod v anestezijo smo izvedli z intravensko aplikacijo propofola (Propoven, Fresenius Kabi Ltd., Runcorn, Velika Britanija) v odmerku 4–7 mg/kg telesne teže. Tako po kožni inciziji so psice podkožno prejele metadon v odmerku 0,2 mg/kg telesne teže (Comfortan, Dechra, Northwich, Velika Britanija). Anestezijo smo vzdrževali s plinskim anestetikom sevofluranom (Sevoflurane, Dräger, Lübeck, Nemčija) v koncentraciji 1,5–3 %. Med kirurškim posegom so živali prejemale vensko tekočinsko terapijo ringerjevega laktata (Hartmanova raztopina, B. Braun, Melsungen, Nemčija) v vzdrževalnem odmerku 5–10 ml/kg/uro. Štiri ure po posegu so psice ponovno podkožno prejele metadon v enakem odmerku. Protibolečinska terapija po posegu je bila zagotovljena s tramadolijevim kloridom (Tramal, Stada, Bad Vilbel, Nemčija) v odmerku 3 mg/kg telesne teže peroralno, ki so ga psice dobole po potrebi, vendar maksimalno do tri dni po posegu. Preventivne antimikrobne terapije nismo predpisali.

3.2.1.3 Kirurški poseg

S sredinskim rezom od sramnice do popka in z ventralnim rezom materničnega telesa smo omogočili dobro preglednost, kar je omogočalo hitro odstranjevanje plodov. Najprej smo odstranili plod, ki je ležal najbolj kavdalno, nato pa izmenično plodove iz levega in desnega materničnega roga. Po odstranitvi plodov smo odstranili tudi pripadajoče posteljice.

Za zapiranje maternice smo uporabili enostaven tekoči šiv in monofilamentni resorbibilni šivalni material v velikosti 4/0 ali 3/0 v enem sloju (Biosyn, Covidien, Dublin, Irska). Za spodbujanje krčenja in čiščenja maternice smo na koncu vanjo injicirali oksitocin (Oxytocin, Veyx-Pharma GmbH, Schwarzenborn, Nemčija) v odmerku 0,25-1 IE, odvisno od velikosti psice. Pred zaprtjem trebušne votline smo le-to dobro pregledali in sprali z 0,9 % natrijevim kloridom, ogretim na telesno temperaturo (NaCl, B Braun, Melsunger, Nemčija). Po tem smo jo zaprli s tekočimi šivi in z monofilamentnim resorbibilnim šivalnim materialom v velikosti 3/0 ali 2/0 (Biosyn, Covidien, Dublin, Irska). Za šivanje podkožja in kože smo uporabili enostaven tekoči in intradermalni šiv ter monofilamentni resorbibilni šivalni material v velikosti 4/0 ali 3/0 (Caprosyn, Covidien, Dublin, Irska).



Slika 5: Dobra vizualizacija maternice za hitro odstranitev plodov (Zakošek Pipan, 2017)

Picture 3: Good visualization of uterus for quick removal of fetuses (Zakošek Pipan, 2017)

3.2.2 Vaginalni porod

Psice, ki smo jih izbrali za sodelovanje v naši raziskavi, so bile med brejostjo pod nadzorom lastnikov in veterinarjev. Lastniki so nas poklicali, ko se je pričela prva faza poroda. Na kraj poroda smo prišli nekaj ur pred začetkom druge faze, kar smo določili na podlagi padca rektalne telesne temperature in obnašanja psice. Pri nekaterih psicah smo spremljali tudi koncentracijo serumskega progesterona zadnji teden pred predvidenim datumom poroda. Po skotitvi smo mladiča sprostili iz amnijskega mehurja, popkovnico stisnili s hemostatskimi prijemalkami in jo sterilno odvzeli za nadaljnje vzorčenje. Popkovnico smo podvezali z resorbibilnim šivalnim materialom (velikosti 3/0 ali 2/0) in dali mladiča v nego materi.

3.2.3 Ocenjevanje novorojencev

Vitalnost pasjih novorojencev smo ocenjevali 5, 15 in 60 minut po porodu ali CR. Za ocenjevanje smo uporabili modificirano oceno po Apgarjevi (Veronesi in sod., 2009; Veronesi, 2016) v kombinaciji z ocenjevanjem refleksov. Če je bila modificirana ocena po Apgarjevi ≤ 3 , smo mladiče dodatno oskrbovali (dovajanje kisika, čiščenje dihalnih poti), po potrebi tudi oživljali (masaža srca, predihavanje). Po stabilizaciji smo jih stehtali in pregledali prisotnost morebitnih prirojenih nepravilnosti (zajčja ustnica, volčje žrelo, nerazvit anus). Določili smo spol mladičev in jih ustrezno označili, da so lahko lastniki kasneje spremljali prirast do odstavitve. Zaradi kasnejše obdelave podatkov smo jih razdelili tudi v dve skupini – mrtvorojeni in živorojeni.

Mladičem, katerih matere ob porodu še niso imele kolostruma, smo dali pod jezik kapljico 40 % glukoze.



Slika 6: Primerno označeno mladiči (Kajdič, 2017)

Picture 4: Properly labeled puppies (Kajdič, 2017)

3.2.3.1 Ocena po Apgarjevi

Pri ocenjevanju po Apgarjevi smo upoštevali pet parametrov: barva sluznic, srčni utrip, frekvenca dihanja, gibljivost in lumbosakralna stimulacija. Barvo sluznic smo določili z opazovanjem barve ustne sluznice. Srčni utrip in frekvenco dihanja smo ovrednotili z avskultacijo srca in pljuč. Da bi ocenili mišični tonus, smo opazovali gibanje mladičev v sternalnem položaju. Z lumbosakralno stimulacijo – z močnim drgnjenjem mladiča po hrbtnu – smo ocenjevali vzdražljivostni refleks (premikanje in vokalizacija). Vsak parameter smo ovrednotili z 0, 1 ali 2 točkama. Po seštevku točk smo mladiče razdelili v tri kategorije glede na vitalnost: 0–3 – slaba vitalnost, 4–6 – zmerna vitalnost in 7–10 točk – dobra vitalnost. Vitalnost smo določali 5, 15 in 60 minut po rojstvu. Obrazec, ki smo ga uporabili za ocenjevanje, je prikazan v Prilogi 2 – Obrazec za določanje ocene po Apgarjevi in refleksov.



Slika 7: Določanje barve ustne sluznice (Zakošek Pipan, 2018)

Picture 5: Evaluation of the color of oral mucosa (Zakošek Pipan, 2018)

3.2.3.2 Ocenjevanje refleksov

Pet, 15 in 60 minut po rojstvu smo ocenjevali tudi neonatalne reflekse: sesalni, odrivni refleks in refleks vrnitve v osnovni položaj. Sesalni refleks smo ocenili tako, da smo mezinec, namočen v toplo vodo, vstavili v gobček mladiča in tako ocenili moč sesanja. Za odrivni refleks smo s palcem in kazalcem oblikovali krog, ki smo ga postavili pred gobec mladiča in tako preverili moč odrivanja, in sicer glede na to, kako močno se je opiral v odprtino med prsti. Refleks vrnitve v osnovni položaj smo preverili tako, da smo mladiča obrnili na hrbet in ocenili čas, v katerem se je obrnil nazaj v sternalno lego. Vsak refleks smo točkovali z 0–2 točkama in za oceno uporabili seštevek vseh treh refleksov. Rezultate smo interpretirali: 0–2 – slaba odzivnost, 3–4 – zmerna odzivnost in 5–6 točk – dobra odzivnost. Obrazec, ki smo ga uporabili za ocenjevanje neonatalnih refleksov, je prikazan v Prilogi 2.

3.2.4 Zbiranje in ravnanje z vzorci

Vaginalni in oralni bris smo pri psicah odvzeli dvakrat. Prvič smo brisa odvzeli v prvi polovici brejosti, drugič pa tik pred uvodom v anestezijo pred CR ali pred začetkom druge faze vaginalnega poroda. Vzorce smo odvzeli v prvi polovici brejosti in ob porodu z namenom, da od psic pridobimo čim več različnih bakterijskih izolatov. Dvojnih vzorcev nismo jemali z namenom primerjanja sestave mikrobiote v različnih obdobjih brejosti.

Pri vaginalnih porodih nismo vselej uspeli dobiti posteljic, ker so jih včasih psice prehitro pojedle. Vzorce kolostruma smo vzeli nemudoma po kirurškem posegu ozioroma čimprej po zaključeni drugi fazi vaginalnega poroda, nato pa še štiri ure po prvem vzorčenju. Novorojenim pasjim mladičem smo odvzeli še vzorce mekonija.

3.2.4.1 Bris sluznice nožnice (vaginalni bris)

Po čiščenju vulve z blago raztopino klorheksidina (Skinsept mucosa dermalna raztopina, Ecolab, Saint Paul, Minnesota) smo odvzeli bris nožnice. Sramne ustnice (*labiae vulvae*) smo razmagnili s sterilnimi rokavicami in odvzeli bris tako, da smo sterilno vatirano paličko (Deltalab, Rubi, Španija) preko spekuluma nežno vstavili v kraniotorzalni smeri v nožnico in jo približno 30 sekund nežno obračali po sluznici nožnice.

3.2.4.2 Bris ustne sluznice (oralni bris)

Bris ustne sluznice smo odvzeli na bukalni sluznici ustne votline, tako da smo odmagnili levi ali desni stranski ustni kot in s sterilno vatirano paličko nežno podrgnili po sluznici.

3.2.4.3 Vzorci kolostruma

Pred odvzemom vzorcev smo seske razkužili s klorheksidinom (Spitaderm, Ecolab, Saint Paul, Minnesota). Zaradi povečane proizvodnje kolostruma v kavdalnem delu mlečne žleze smo večino vzorcev odvzeli na tem mestu. Seske smo nežno stisnili, spustili prvi nekaj kapljic kolostruma, nato pa smo vatirano paličko prislonili ob seskovo odprtino, da je posrkala kolostrum.

3.2.4.4 Bris posteljice

Bris posteljice pri mladičih, skotnih z vaginalnim porodom, smo odvzeli takoj po njihovi skotitvi. Pri mladičih, skotnih s CR, smo brise posteljice odvzeli takoj, ko smo jih odstranili iz maternice. Vzorce smo odvzeli s sterilno vatirano paličko z notranje strani posteljice, tako da smo vatenko drgnili po površini posteljice približno 30 sekund.

3.2.4.5 Vzorci mekonija

Vzorce mekonija pasjih novorojencev smo pridobili s stimulacijo presredka s krožnimi gibi. Bombažno krpico, namočeno v mlačno vodo, smo po hranjenju mladiča s prvim obrokom nežno drgnili po perinealni regiji. Vzorce smo odvzeli s sterilno vatirano paličko takoj po odvajanju.



Slika 8: Stimulacija perinealne regije s krožnimi gibi za pridobitev vzorca mekonija (Zakošek Pipan, 2018)

Picture 6: Stimulation of the perineal region with circular movement to obtain a meconium sample (Zakošek Pipan, 2018)

3.2.5 Izolacija bakterij

Vse vzorce smo zbrali pod terenskimi pogoji, vendar na sterilen način. Material z vatiranimi palički smo čim prej (običajno v ambulanti, takoj po odvzemu) nasadili na trdna gojišča (krvni agar s 5 % ovčje krvi) (Oxoid, Velika Britanija). Vsak vzorec smo hkrati nasadili na dve gojišči. Eno smo pustili v aerobnih pogojih, za drugo smo ustvarili anaerobno atmosfero s pomočjo posebnih blazinic (generatorjev) s snovjo, ki je porabljala kisik (GENbag, GENbox, bioMérieux, Inc., Durham, Severna Karolina). Hitro ustvarjanje anaerobnih pogojev je bilo nujno potrebno za uspešno izolacijo anaerobnih bakterij. Preden smo agarske plošče postavili v inkubator, smo jih hraniли na sobni temperaturi, zaščitene pred neposredno sončno svetlobo. Kulture smo inkubirali pri 37 °C za 2–5 dni.



Slika 9: Primarna kultura oralnega brisa; sajeno na krvni agar v anaerobnih pogojih (Kalin, 2018)

Picture 8: Primary culture of oral swab; inoculated onto nutrient agar plates supplemented with 5% of sheep blood in anaerobic condition (Kalin, 2018)

3.2.5.1 Pregled kultur in identifikacija bakterij z masno spektrometrijo

Po 2–5 dneh smo pregledali površino gojišč za morebitno bakterijsko rast. Porasle kolonije smo osamili in inkubirali za nadalnjih 24–48 ur. Aerobne in anaerobne kulture smo obravnavali ločeno. Porasle bakterijske kolonije smo po osamitvi presadili za čisto kulturo in jih nato identificirali s pomočjo tehnologije MALDI-TOF MS (Microflex LT system, Bruker Daltonics), ki deluje na podlagi masne spektrometrije. Naprava uporablja programsko opremo MALDI Biotype 3.1 (Bruker Daltonics).

Majhno količino čiste kulture smo prenesli neposredno na označena polja ploščice (MSP 96) iz poliranega jekla in počakali, da se je bakterijska kultura posušila na sobni temperaturi. Nato smo dodali 1 µl matriksa (α -ciano-4-hidroksicimetna kislina), ki razaplja celično steno bakterij in tako omogoča sproščanje in analizo citoplazemskih beljakovin. Tako pripravljeno (eno ali več) kulturo smo postavili v aparaturo MALDI-TOF MS, ki na podlagi laserske obdelave vzorca povzroči, da posamezne proteinske frakcije začnejo potovati vzdolž vakumske cevi različno hitro, odvisno od njihove velikosti. Naprava avtomatično izmeri položaj in velikost

produktov, ki je značilna za posamezno bakterijsko vrsto. Za uspešno identifikacijo vrste smo po merilih proizvajalca uporabili oceno $\geq 2,0$ in $\geq 1,7$ skladnoti za določitev rodu bakterije.



Slika 10: Čista kultura bakterijskih kolonij po presajanju (Kajdič, 2017)

Picture 7: Pure bacterial culture after sub-culturing (Kajdič, 2017)

3.2.6 Analiza podatkov

Podatke smo zbirali in urejali v programu Microsoft Excel (2010). Za izračun osnovnih opisnih statistik in statistično analizo smo uporabili statistični programski jezik R 3.5.0 (<http://www.R-project.org>). Pri vseh testih je bila meja za statistično značilne podatke p-vrednost, ki je manjša od 0,05. Razlike med prirasti mladičev in ocene vitalnosti mladičev glede na tip poroda smo testirali z neparametričnim Kruskal-Wallisovim testom vsote rangov. Razlike med relativnim prirastom med carskim rezom in vaginalnim porodom smo testirali s parametričnim T-testom za neodvisne vzorce. Prav tako smo ta test uporabili, ko smo testirali razlike v prirastu mladičev med mladiči, skotenimi s sterilnim mekonijem/posteljico, in mladiči, kjer smo iz mekonija/posteljice izolirali bakterijske kulture. Poleg tega smo testirali povezavo med oceno vitalnosti mladičev in tipom poroda, za kar smo uporabili Fisherjev test.

4 REZULTATI

4.1 OSNOVNI PODATKI

Raziskava je potekala od decembra 2016 do julija 2018. V tem času smo v raziskavo vključili 96 mladičev, ki so se skotili sedemnajstim psicam povprečne starosti $4,8 \pm 1,6$ let. Porodov je bilo 20, saj so tri psice, ki so bile vključene v raziskavo, kotile dvakrat. Psice so bile različnih pasem. Tabela 4 prikazuje psice glede na pasmo in število mladičev glede na posamezno psico. Štiri psice so spadale v skupino velikih psov (več kot 25 kg), štiri med srednje velike pse (10–25 kg) in 12 med majhne pasme psov (1–10 kg).

Tabela 4: Število in delež (%) mladičev, ki so bili vključeni v raziskavo glede na velikost in pasmo psice

Table 4: Number and percentage (%) of puppies involved in the study in relation to the dog breed and size

| VELIKOST PASME | PASMA | Število in delež [%] psic | Število in delež [%] mladičev | Število in delež [%] samic | Število in delež [%] samcev |
|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------|-------------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| | Pritlikavi šnavcer | 1 (5,0) | 5 (5,2) | 2 (4,7) | 3 (5,7) |
| | Yorkshirski terier | 1 (5,0) | 4 (4,2) | 1 (2,3) | 3 (5,7) |
| | Jack russel terier | 1 (5,0) | 4 (4,2) | 1 (2,3) | 3 (5,7) |
| | Pritlikavi špic – pomeranec | 1 (5,0) | 3 (3,1) | 1 (2,3) | 2 (3,8) |
| | Koder – pritlikavi | 1 (5,0) | 2 (2,1) | 1 (2,3) | 1 (1,9) |
| | Boston terier | 4 (20,0) | 16 (16,7) | 11 (25,6) | 5 (9,4) |
| | Mali angleški hrt – Whippet | 1 (5,0) | 7 (7,3) | 4 (9,3) | 3 (5,7) |
| Skupaj male pasme | | 10 (50,0) | 41 (42,7) | 21 (48,8) | 20 (37,7) |
| | Valižanski ovčar (Pembroke) | 3 (15,0) | 17 (17,7) | 7 (16,3) | 10 (18,9) |
| | Angleški buldog | 1 (5,0) | 4 (4,2) | 2 (4,7) | 2 (3,8) |
| | Francoski buldog | 2 (10,0) | 13 (13,5) | 5 (11,6) | 8 (15,1) |
| Skupaj srednje velike pasme | | 6 (30,0) | 34 (35,4) | 14 (32,6) | 20 (37,7) |
| | Veliki švicarski planšarski pes | 1 (5,0) | 6 (6,3) | 1 (2,3) | 5 (9,4) |
| | Novofundlandec | 1 (5,0) | 9 (9,4) | 4 (9,3) | 5 (9,4) |
| | Labradorec | 1 (5,0) | 4 (4,2) | 2 (4,7) | 2 (3,8) |
| | Nemški ovčar | 1 (5,0) | 2 (2,1) | 1 (2,3) | 1 (1,9) |
| Skupaj velike pasme | | 4 (20,0) | 21 (21,9) | 8 (18,6) | 13 (24,5) |

Mladiče smo, glede na tip poroda, razdelili v dve skupini: vaginalni porod in carski rez. Število mladičev, ki so bili skoteni s carskim rezom, smo dodatno razdelili še v skupino, skoteno z elektivnim carskim rezom, in skupino, skoteno z urgentnim carskim rezom. V Tabeli 5 so podatki o številu mladičev glede na vrsto poroda, njihov spol in preživetje.

Tabela 5: Število in delež (%) mladičev glede na tip poroda, spol in preživetje mladičev

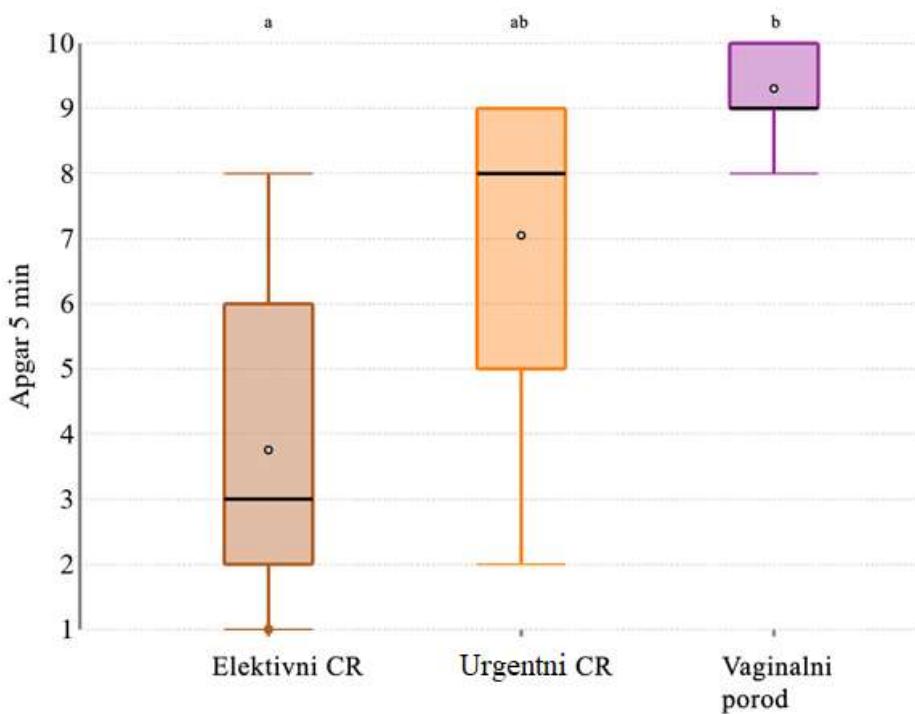
Table 5: Number and percentage (%) of puppies according to the type of parturition, sex and survival of newborns

| | | Število mladičev | Delež mladičev [%] |
|---------------|---------------------|------------------|--------------------|
| Tip poroda | vaginalni porod | 26 | 27,1 |
| | CR | elektivni | 48 |
| | | urgentni | 22 |
| Spol mladičev | samice | | 44,8 |
| | samci | | 55,2 |
| Preživetje | živorojeni mladiči | 91 | 94,8 |
| | mrtvorojeni mladiči | 5 | 5,2 |

4.2 OCENA VITALNOSTI – OCENA PO APGARJEVI

4.2.1 Ocena po Apgarjevi po 5 minutah

Mladiči, skoteni z vaginalnim porodom, so bili po petih minutah najbolj vitalni, in sicer statistično značilno bolj kot mladiči, skoteni s carskim rezom. Mladiči, skoteni z urgentnim carskim rezom, so bili bolj vitalni kot mladiči, skoteni z elektivnim carskim rezom. Število točk ocene po Apgarjevi po petih minutah pri carskem rezu se je statistično značilno razlikovalo od števila točk pri vaginalnem porodu ($p < 0,001$) (Slika 8).



Slika 11: Primerjava števila točk ocene po Apgarjevi po 5 minutah med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom

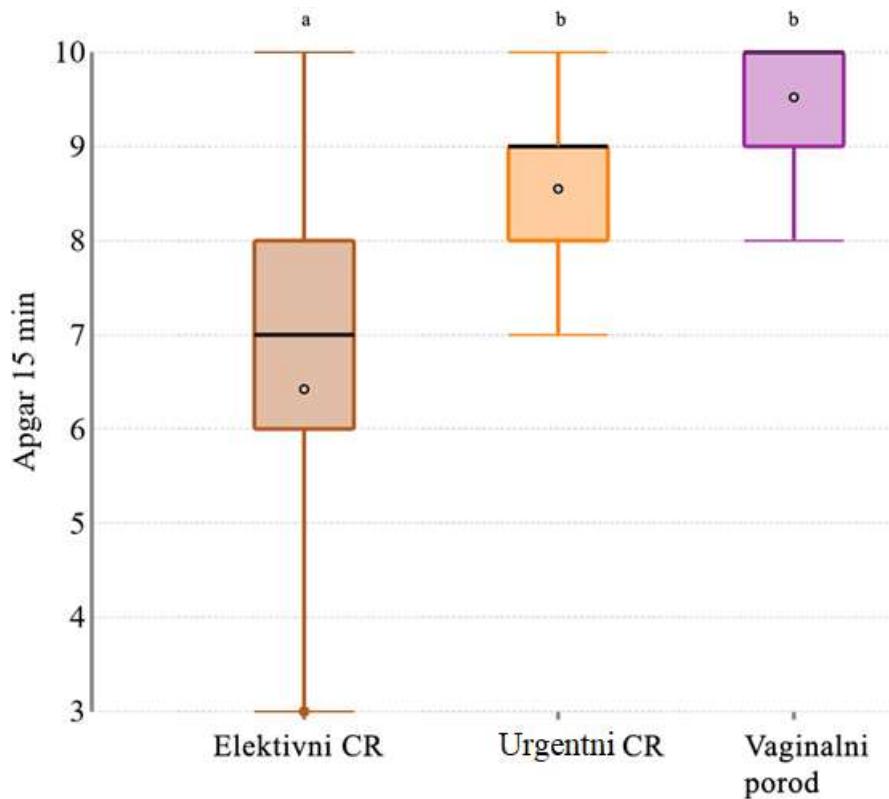
(vrednosti parametrov, ki so se statistično značilno razlikovale ($p < 0,05$), so označene z različnimi črkami)

Figure 8: Comparison of Apgar score 5 minutes after birth between puppies delivered with elective or urgent caesarean section and vaginal delivery

(parameter values that were statistically different ($p < 0.05$) are marked with different letters)

4.2.2 Ocena po Apgarjevi po 15 minutah

Tudi po 15 minutah so imeli najboljšo oceno vitalnosti mladiči, skoteni z vaginalnim porodom. Skupina mladičev, skotenih s carskim rezom, je imela še vedno nižje število točk ocene po Apgarjevi od mladičev, skotenih s carskim rezom ($p < 0,01$). V primeru, ko smo carske reze ločili na elektivne in urgentne, smo dobili statistično značilno razliko le med vaginalnimi porodi in elektivnimi carskimi rezi ($p < 0,001$). Med ostalimi skupinami ni bilo statistično značilnih razlik (Slika 9).



Slika 12: Primerjava števila točk ocene po Apgarjevi po 5 minutah med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom

(vrednosti parametrov, ki so se statistično značilno razlikovale ($p < 0,05$), so označene z različnimi črkami)

Figure 9: Comparison of Apgar score 15 minutes after birth between puppies delivered with elective or urgent caesarean section and vaginal delivery

(parameter values that were statistically different ($p < 0.05$) are marked with different letters)

4.2.3 Ocena po Apgarjevi po 60 minutah

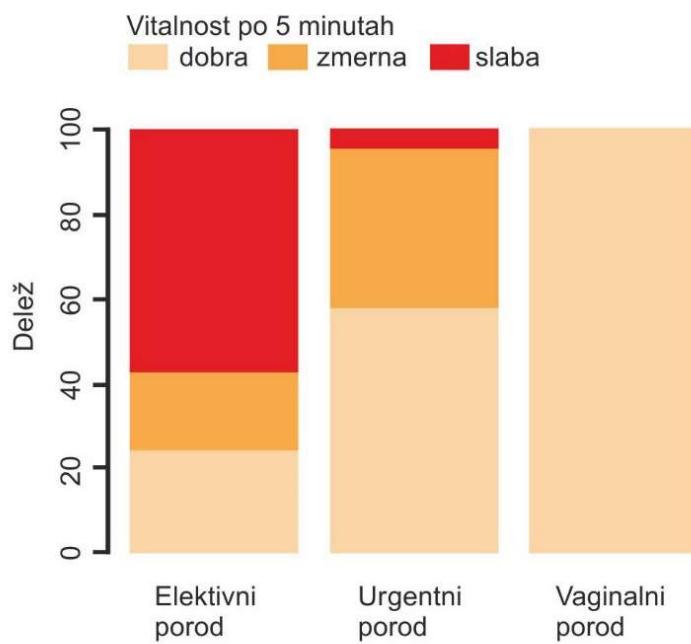
Med različnimi skupinami v številu točk ocene po Apgarjevi po 60 minutah ni bilo statistično značilnih razlik. Pri vseh treh porodih je bila mediana števila točk ocene po Apgarjevi 10.

4.2.4 Povezava med oceno po Apgarjevi in tipom poroda

S Fischerjevim testom smo testirali tudi povezavo med razredi Apgar (slaba vitalnost od 0 do 3, zmerna vitalnost od 4 do 6 in dobra vitalnost od 7 do 10 točk) in tipom poroda. S pomočjo te metode smo ugotavljali, kakšna je razporeditev mladičev glede na tip poroda v različne razrede. Razredi Apgar po 5 minutah in razredi Apgar po 15 minutah so bili statistično značilno povezani s tipom poroda ($p < 0,001$). Po 60 minutah pa povezava ni bila več statistično značilna. Največ mladičev je bilo slabo vitalnih po petih minutah v skupini elektivnih carskih rezov.

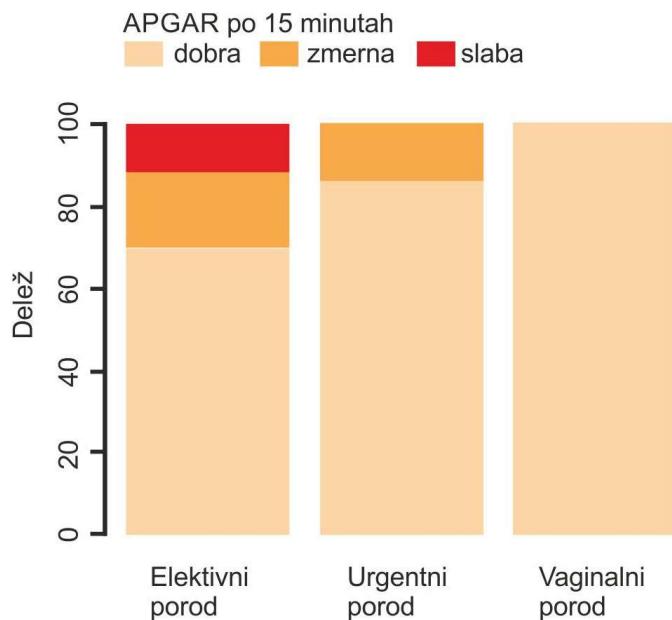
Večina mladičev, skotenih z vaginalnim porodom, je bila dobro vitalna. V skupini urgentnih carskih rezov je bilo nekaj zmerno vitalnih, nekaj slabo vitalnih in veliko dobro vitalnih mladičev.

Razlike v razporeditvi v posamezne razrede vitalnosti so bile opazne tudi po 15 minutah, kjer je razporeditev mladičev glede na vitalnost pri urgentnem carskem rezu in vaginalnem porodu ostala podobna kot pri oceni vitalnosti po petih minutah. Pri elektivnem carskem rezu je bil po 15 minutah večji delež mladičev dobro vitalnih kot pri oceni po Apgarjevi po petih minutah. Število in delež mladičev glede na tip poroda in oceno po Apgarjevi po 5, 15 in 60 minutah sta prikazana na spodnjih slikah (Slike 10–12). Po petih minutah je bilo od vseh mladičev, skotenih z vaginalnim porodom in urgentnim carskim rezom, največ dobro vitalnih (100 % pri vaginalnem porodu in 10 mladičev oz. 55 % pri urgentnem carskem rezu), pri mladičih, skotenih z elektivnim carskim rezom, pa jih je bilo največ slabo vitalnih (56,1 %). Po 15 minutah je bilo največ mladičev pri posameznem tipu poroda dobro vitalnih.



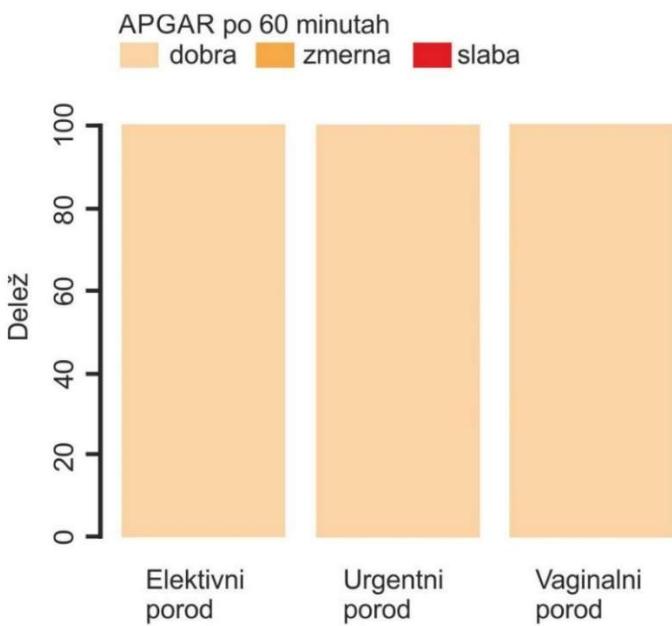
Slika 13: Delež (%) mladičev glede na tip poroda in razred Apgar po 5 minutah

Figure 10: Proportion (%) of puppies according to parturition type and Apgar score after 5 minutes



Slika 14: Delež (%) mladičev glede na tip poroda in razred Apgar po 15 minutah

Figure 11: Proportion (%) of puppies according to parturition type and Apgar score after 15 minutes



Slika 15: Delež (%) mladičev glede na tip poroda in Apgar razred po 60 minutah

Figure 12: Proportion (%) of puppies according to parturition type and Apgar score after 60 minutes

4.3 OCENA REFLEKSOV

Za oceno refleksov smo izračunali mediano ter prvi in tretji kvartil pri različnih tipih poroda. Pri statistični obdelavi podatkov o oceni refleksov smo izključili mrtvorojene mladiče ($n=5$). Prav tako manjkajo podatki za tri mladiče pri ocenjevanju refleksov pri vaginalnih porodih, saj so se mladiči skotili prej, kot smo lahko prišli na mesto poroda.

Pri vaginalnih porodih je bila mediana ocene refleksov pet minut po porodu 6 točk, prvi kvartil 5 točk, tretji kvartil pa 6 točk. Po 15 minutah so se mediana ter prvi in tretji kvartil dvignili na maksimalno 6 točk in so tudi po 60 minutah ostali enaki.

Pri elektivnih carskih rezih je bila mediana ocene refleksov pet minut po rojstvu 0 točk, prvi kvartil 0 točk, tretji kvartil pa 4 točke. Po 15 minutah se je mediana dvignila na 3 točke, prvi kvartil na 1 točko in tretji na 4 točke. Po 60 minutah so se vrednosti še dvignile, in sicer mediana na 6 točk, prvi kvartil na 5 točk in tretji kvartil na 6 točk.

Pet minut po porodu z urgentnim carskimi rezom je bila mediana 2 točki, prvi kvartil 1 točko in tretji 6 točk. Po 15 minutah se je mediana povisala na 6 točk, prvi kvartil je bil 4,5 točke in tretji kvartil 6 točk. Po 60 minutah je bila vrednost vseh treh spremenljivk 6 točk.

V Tabeli 6 je prikazano število in delež (%) mladičev glede na oceno refleksov in tip poroda pri 5, 15 in 60 minutah po porodu. Število in delež (%) vseh mladičev, razdeljenih glede na oceno refleksov, prikazuje Tabela 7.

Tabela 6: Število in delež (%) mladičev glede na oceno refleksov in tip poroda pri 5, 15 in 60 minutah po porodu
Table 6: Number and percentage (%) of puppies according to the assessment of reflexes and the mode of delivery at 5, 15 and 60 minutes after delivery

| Ocena refleksov po 5 minutah | | | | |
|-------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------|--|
| Tip poroda | Število in delež [%] slabo odzivnih mladičev | Število in delež [%] zmerno odzivnih mladičev | Število in delež [%] dobro odzivnih mladičev | |
| Vaginalni porod | 0 (0,0) | 3 (3,4) | 20 (22,7) | |
| Elektivni CR | 31 (35,2) | 7 (8,0) | 7 (8,0) | |
| Urgentni CR | 11 (12,5) | 1 (1,1) | 8 (9,1) | |
| Ocena refleksov po 15 minutah | | | | |
| Tip poroda | Število in delež [%] slabo odzivnih mladičev | Število in delež [%] zmerno odzivnih mladičev | Število in delež [%] dobro odzivnih mladičev | |
| Vaginalni porod | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 23 (26,1) | |
| Elektivni CR | 21 (23,9) | 13 (14,8) | 11 (12,5) | |
| Urgentni CR | 0 (0,0) | 5 (5,7) | 15 (17,0) | |
| Ocena refleksov po 60 minutah | | | | |
| Tip poroda | Število in delež [%] slabo odzivnih mladičev | Število in delež [%] zmerno odzivnih mladičev | Število in delež [%] dobro odzivnih mladičev | |
| Vaginalni porod | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 23 (26,1) | |
| Elektivni CR | 0 (0,0) | 3 (3,4) | 42 (47,7) | |
| Urgentni CR | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 20 (22,7) | |

Tabela 7: Število in delež (%) mladičev, ki so razdeljeni glede na oceno refleksov

Table 7: Number and percentage (%) of puppies divided according to the assessment of reflexes

| Ocena refleksov | Število in delež [%] slabo odzivnih mladičev | Število in delež [%] zmerno odzivnih mladičev | Število in delež [%] dobro odzivnih mladičev |
|----------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Ocena refleksov po 5 minutah | 42 (47,7) | 11 (12,5) | 35 (39,8) |
| Ocena refleksov po 15 minutah | 21 (23,9) | 18 (20,4) | 49 (55,7) |
| Ocena refleksov po 60 minutah | 0 (0,0) | 3 (3,4) | 85 (96,6) |

4.4 IZOLIRANE BAKTERIJE

4.4.1 Osnovni podatki o izoliranih bakterijah

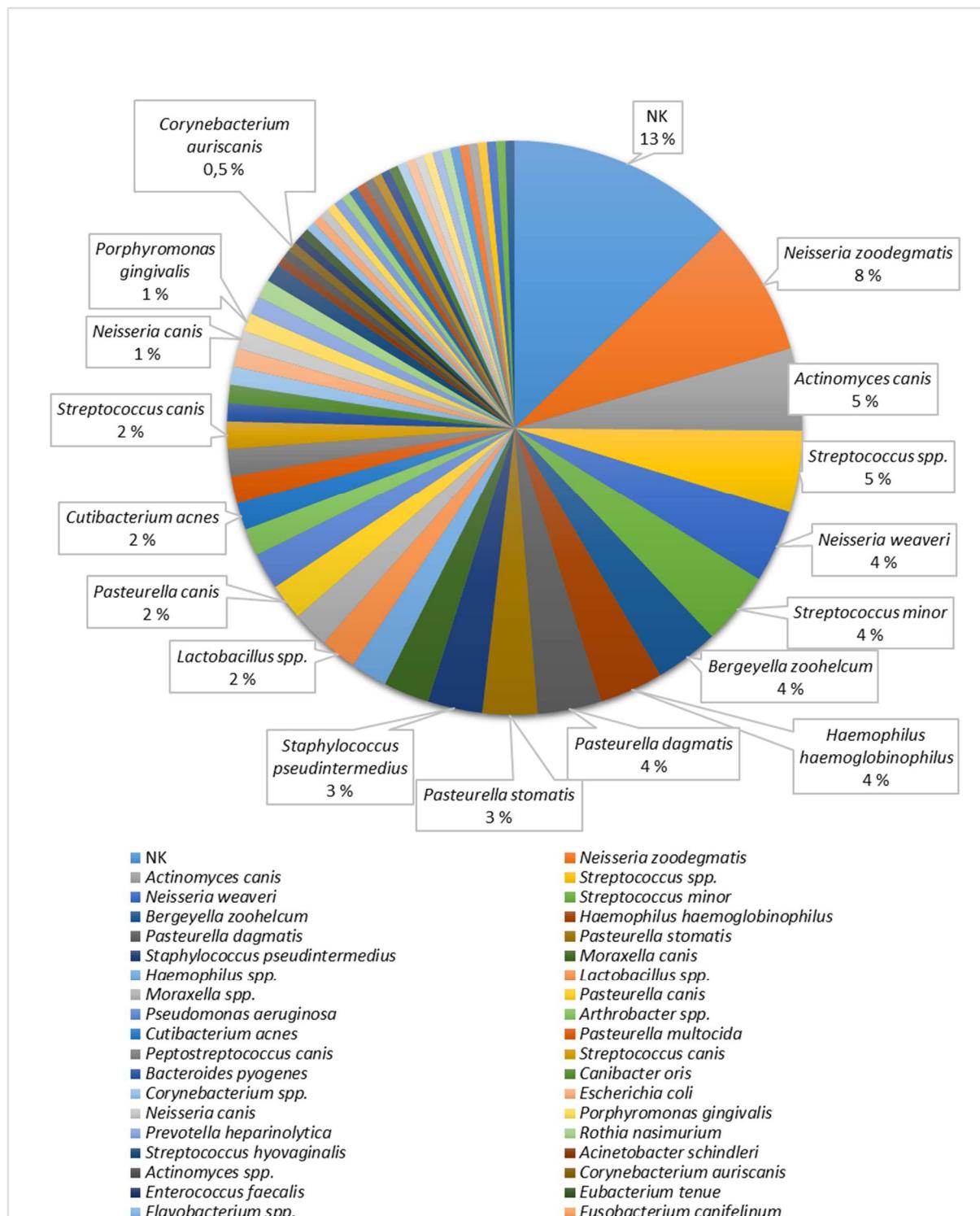
V naslednjih štirih tabelah (Tabele 8–11) in šestih slikah (Slike 13–20) so prikazane bakterije, ki smo jih izolirali glede na vrsto vzorca (ustna sluznica in sluznica nožnice psic, posteljice in mekoniji mladičev).

V Prilogi 3 so tabele, v katerih so navedene bakterijske vrste, ki smo jih izolirali pri psicah in njihovih mladičih med našo raziskavo. Tabele so razporejene po vrstnem redu glede na način poroda: najprej vaginalni porodi (zelena barva), elektivni carski rezi (temno rdeča barva) in urgentni carski rezi (rumena barva). Tabele so razvrščene po velikosti psic od najmanjše do največje psice. Pri 40 % psic nismo dobili vzorcev oralnega in vaginalnega brisa v drugi polovici brejosti, ker so se lastniki za preiskavo odločili tik pred zdajci ali pa je bil izveden urgentni carski rez. Pri 12 mladičih nismo uspeli dobiti vzorcev posteljic, ker so jih psice pojedle, preden smo jim to lahko preprečili. Vzorcev mekonija nismo dobili od petih mladičev. Oznaka S (sterilno) pomeni, da na agarju ni zrasla nobena bakterijska kolonija. Z NK smo označili nedeterminirane kolonije. V tem primeru so na gojišču bakterijske kolonije sicer zrasle, vendar jih ni bilo mogoče identificirati, ker nihovega beljakovinskega profila ni bilo v bazi podatkov sistema MALDI-TOF. Nekaterim od teh bakterij smo lahko na podlagi izgleda kolonij in osnovnih biokemijskih lastnosti določili rod. Z NA smo označili parametre, za katere iz različnih razlogov nismo uspeli pridobiti podatkov. Zastopanost (v odstotkih) posameznih bakterijskih vrst za posamezno vrsto vzorca je prikazana v Prilogi 4.

Tabela 8: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz brisov ustne sluznice psic

Table 8: Bacterial species isolated from the samples of oral mucosa of the bitches

| Po Gramu + bakterije | Po Gramu – bakterije | Posebnosti |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Staphylococcus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. pseudointermedius</i> <i>S. hominis</i> <i>S. aureus</i> | <i>Neisseria</i> <i>N. weaveri</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>N. canis</i> | <i>Mycoplasma</i> (po Gramu se ne obarva, ker nima celične stene) <i>M. canis</i> <i>Mycoplasma spp.</i> |
| <i>Streptococcus</i> <i>S. minor</i> <i>S. salivarius</i> <i>S. hyovaginalis</i> <i>S. oralis</i> <i>Streptococcus spp.</i> | <i>Pasteurella</i> <i>P. canis</i> <i>P. dagmatis</i> <i>P. stomatis</i> <i>P. multocida</i> <i>Pasteurella spp.</i> | <i>Gardnerella</i> (po Gramu variabilne) <i>G. vaginalis</i> |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | <i>Haemophilus</i> <i>H. haemoglobinophilus</i> <i>H. sputorum</i> <i>Haemophilus spp.</i> | |
| <i>Arthrobacter spp.</i> | <i>Pseudomonas</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. stutzeri</i> | |
| <i>Corynebacterium spp.</i> | <i>Moraxella</i> <i>M. canis</i> <i>Moraxella spp.</i> | |
| <i>Canibacter oris</i> | <i>Prevotella heparinolytica</i> | |
| <i>Rothia nasimurium</i> | <i>Bacteroides pyogenes</i> | |
| <i>Lactobacillus spp.</i> | <i>Bergeyella zoohelcum</i> | |
| <i>Cutibacterium</i> (<i>Propionibacterium</i>) <i>C. acnes</i> | <i>Streptobacillus moniliformis</i> | |
| | <i>Acinetobacter schindleri</i> | |
| | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | |
| | <i>Paracoccus versutus</i> | |



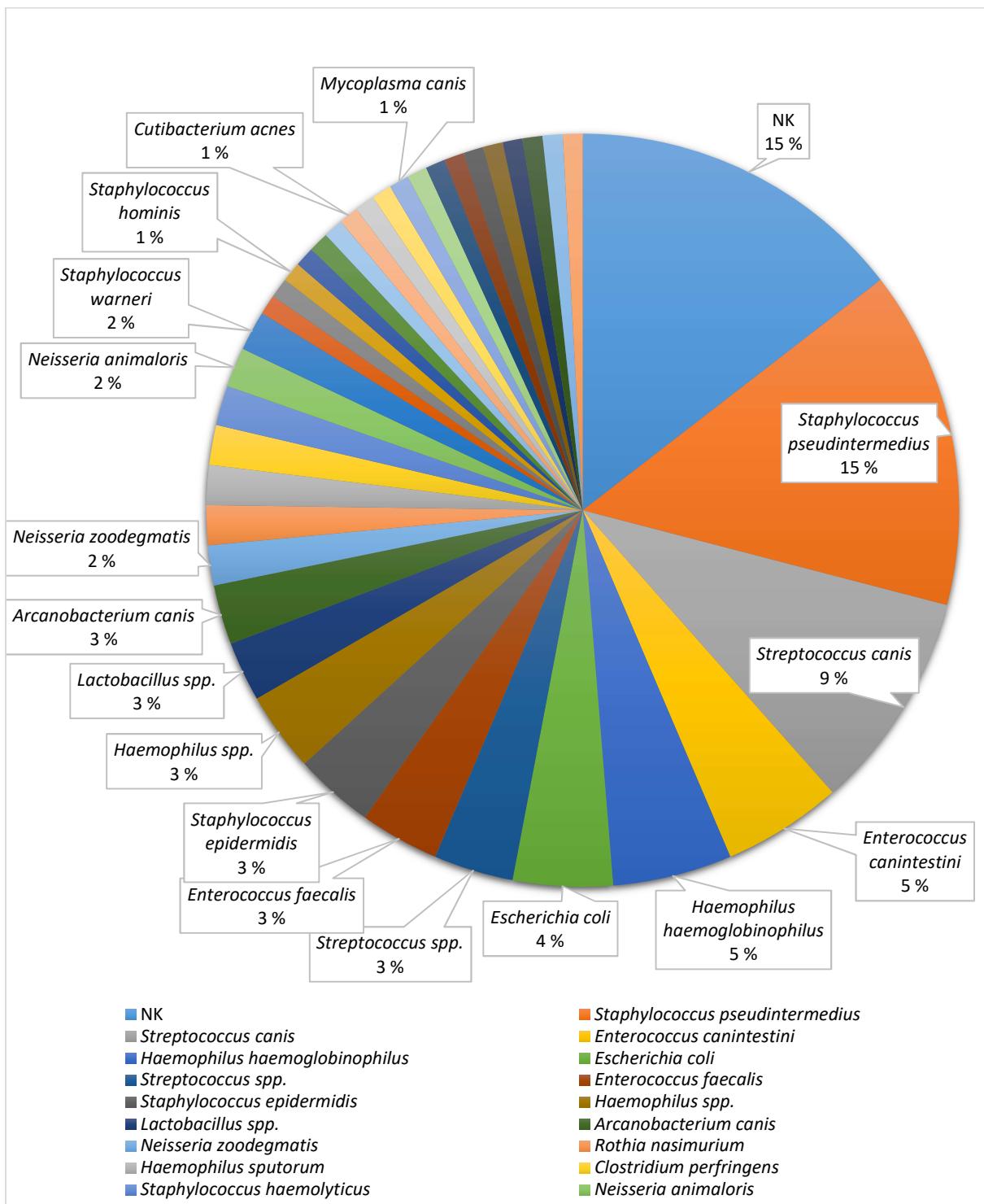
Slika 16: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz brisov ustne sluznice psic

Figure 13: Bacterial species isolated from the samples of oral mucosa of the bitches

Tabela 9: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz brisov sluznice nožnice psic

Table 9: Bacterial species isolated from the samples of vaginal mucosa of the bitches

| Po Gramu + bakterije | Po Gramu – bakterije | Posebnosti |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
| <i>Staphylococcus</i> <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. haemolyticus</i> <i>S. warneri</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. hominis</i> | <i>Neisseria</i> <i>N. meningitidis</i> <i>N. animaloris</i> <i>N. zoodegmatis</i> | <i>Mycoplasma canis</i> |
| <i>Streptococcus</i> <i>S. pyogenes</i> <i>S. canis</i> <i>S. equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i> <i>S. mitis</i> <i>Streptococcus spp.</i> | <i>Pasteurella spp.</i> | |
| <i>Enterococcus</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. canintestini</i> | <i>Haemophilus</i> <i>H. haemoglobinophilus</i> <i>H. sputorum</i> <i>Haemophilus spp.</i> | |
| <i>Corynebacterium xerosis</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | |
| <i>Rothia nasimurium</i> | <i>Moraxella osloensis</i> | |
| <i>Lactobacillus spp.</i> | <i>Streptobacillus spp.</i> | |
| <i>Micrococcus lylae</i> | <i>Klebsiella oxytoca</i> | |
| <i>Eubacterium tenue</i> | <i>Escherichia coli</i> | |
| <i>Rhodococcus rhodochrous</i> | <i>Pantoea spp.</i> | |
| <i>Clostridium</i> <i>C. perfringens</i> <i>Clostriridum spp.</i> | | |
| <i>Bacillus cereus</i> | | |
| <i>Arcanobacterium canis</i> | | |
| <i>Cutibacterium acnes</i> | | |



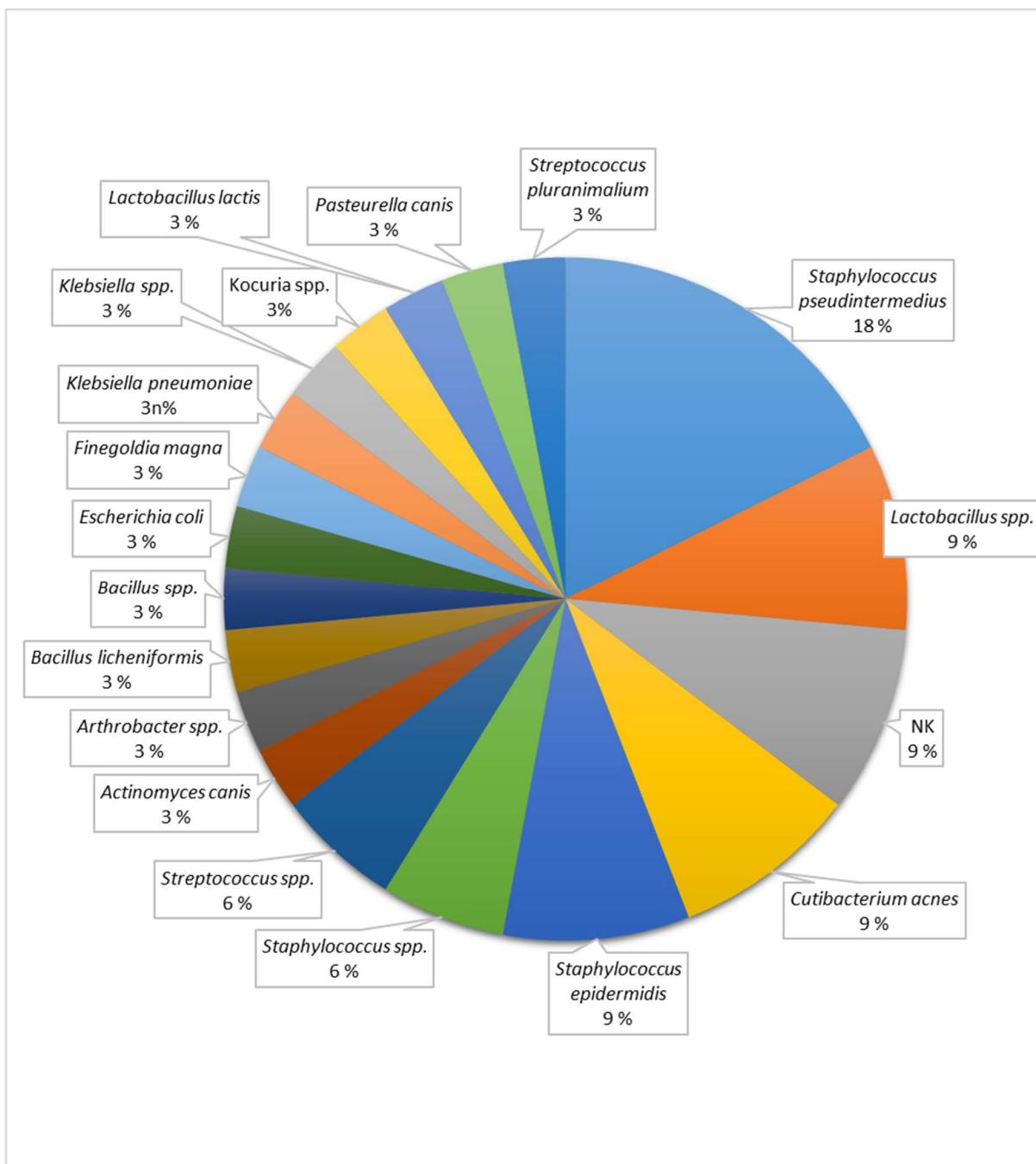
Slika 17: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz brisov sluznice nožnice psic

Figure 14: Bacterial species isolated from the samples of vaginal mucosa of the bitches

Tabela 10: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz vzorcev posteljice mladičev

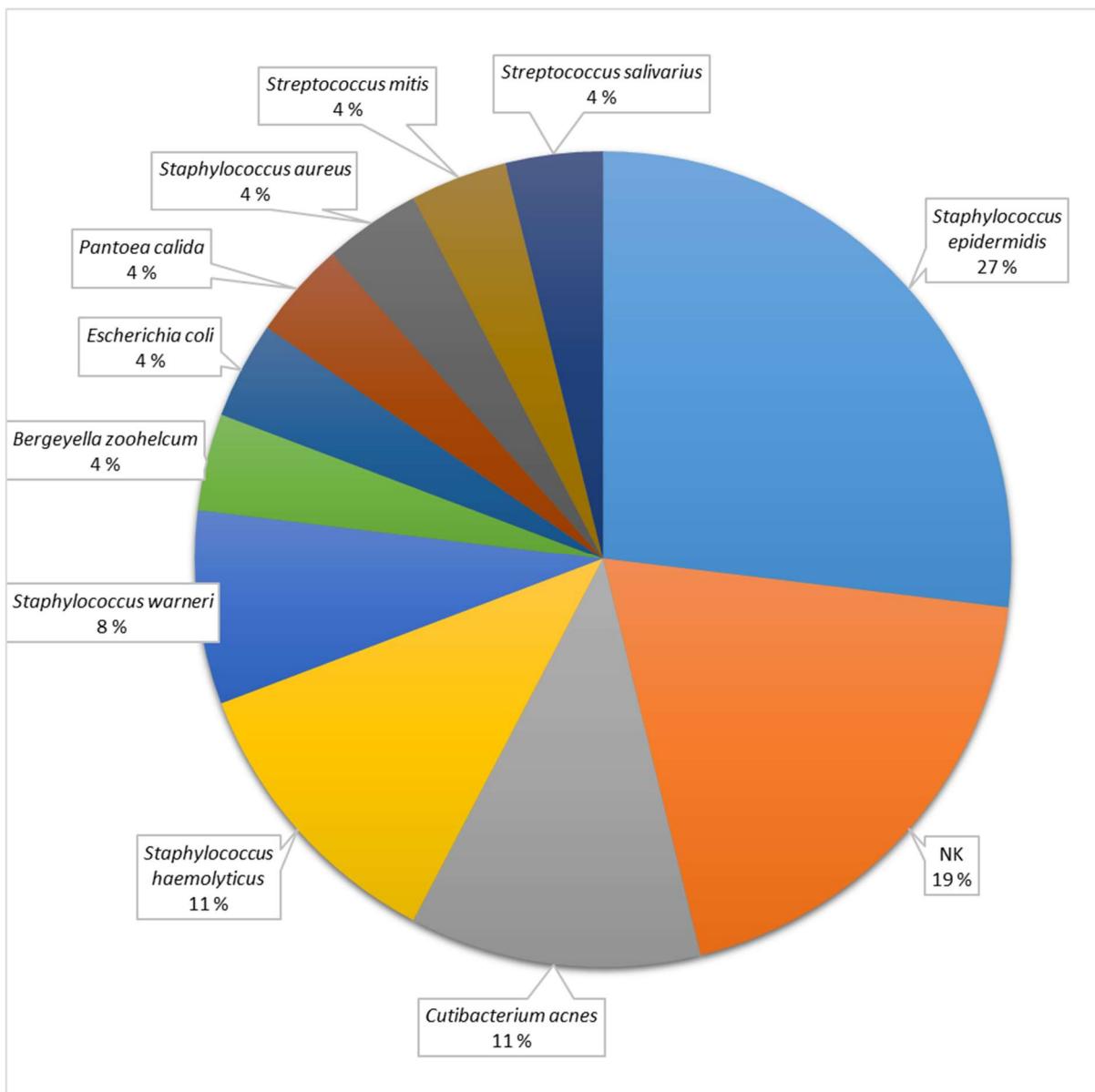
Table 10: Bacterial species isolated from the samples of placenta of the puppies

| Po Gramu + bakterije | Po Gramu – bakterije |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| <i>Staphylococcus</i> <i>S. haemolyticus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. pseudointermedius</i> <i>S. warneri</i> <i>S. aureus</i> <i>Staphylococcus spp.</i> | <i>Pasteurella</i> <i>P. canis</i> <i>Pasteurella spp.</i> |
| <i>Streptococcus</i> <i>S. salivarius</i> <i>S. pluranimalium</i> <i>S. mitis</i> <i>S. sanguinis</i> <i>Streptococcus spp.</i> | <i>Moraxella osloensis</i> |
| <i>Actinomyces</i> <i>A. canis</i> <i>A. oris</i> | <i>Klebsiella</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>Klebsiella spp.</i> |
| <i>Lactobacillus</i> <i>L. lactis</i> <i>Lactobacillus spp.</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| <i>Arthrobacter spp.</i> | <i>Pantoea calida</i> |
| <i>Bacillus</i> <i>B. licheniformis</i> <i>Bacillus spp.</i> | |
| <i>Kocuria spp.</i> | |
| <i>Cutibacterium acnes</i> | |
| <i>Finegoldia magna</i> | |



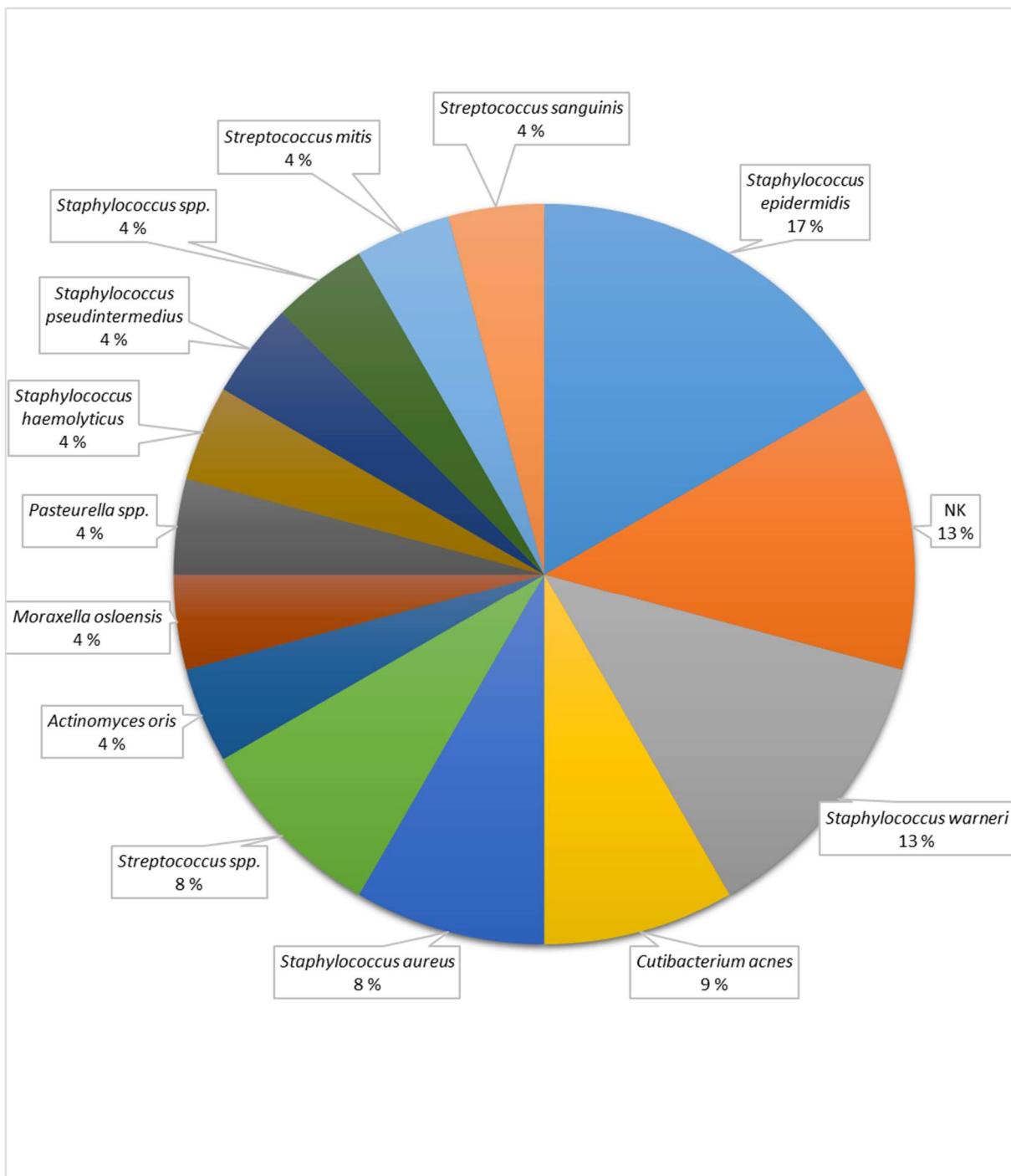
Slika 18: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz vzorcev posteljice mladičev pri vaginalnih porodih

Figure 15: Bacterial species isolated from the samples of placenta of the puppies in vaginal births



Slika 19: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz vzorcev posteljice mladičev pri elektivnih carskih rezih

Figure 16: Bacterial species isolated from the samples of placenta of the puppies in elective caesarean sections

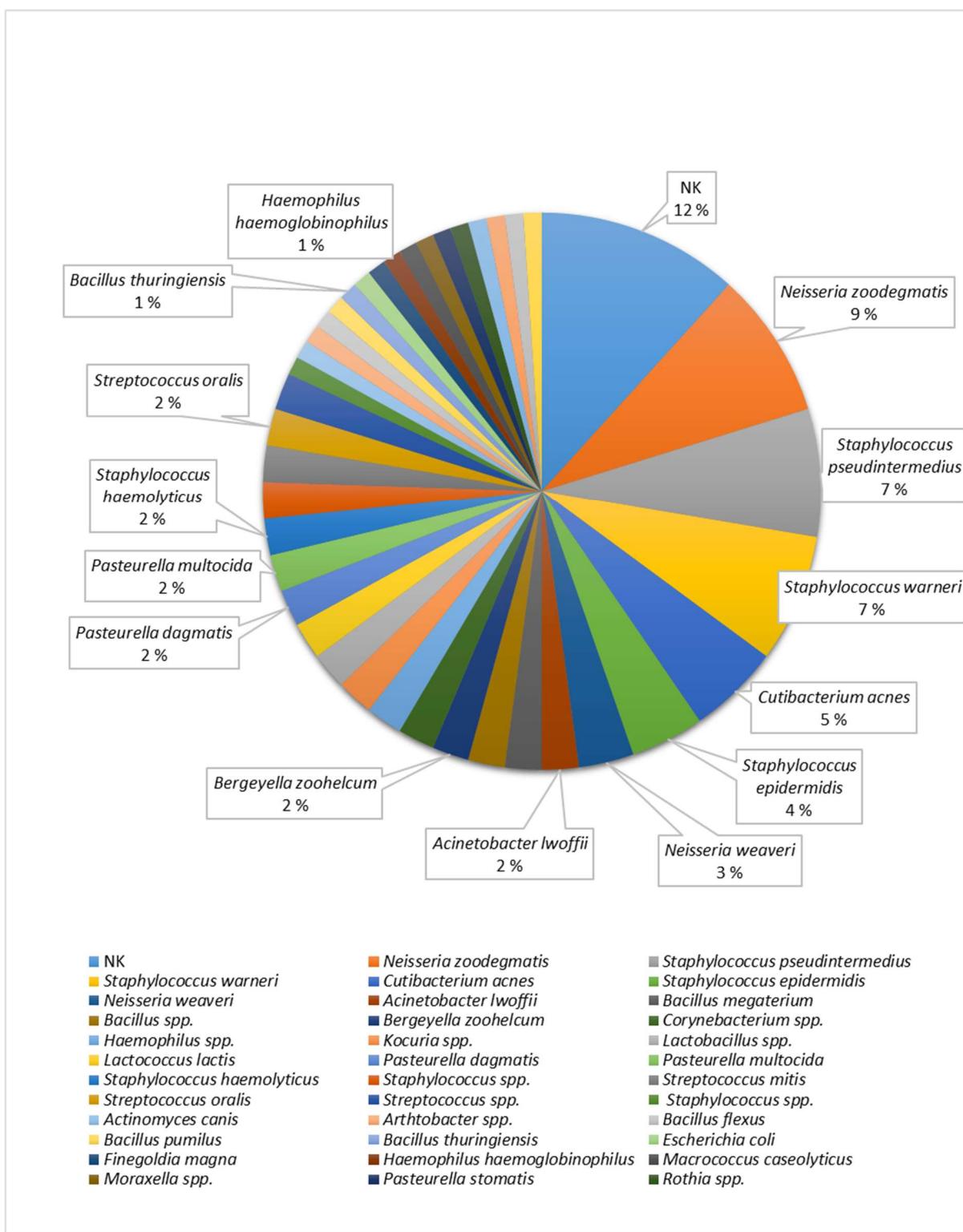


Slika 20: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz vzorcev posteljice mladičev pri urgentnih carskih rezih

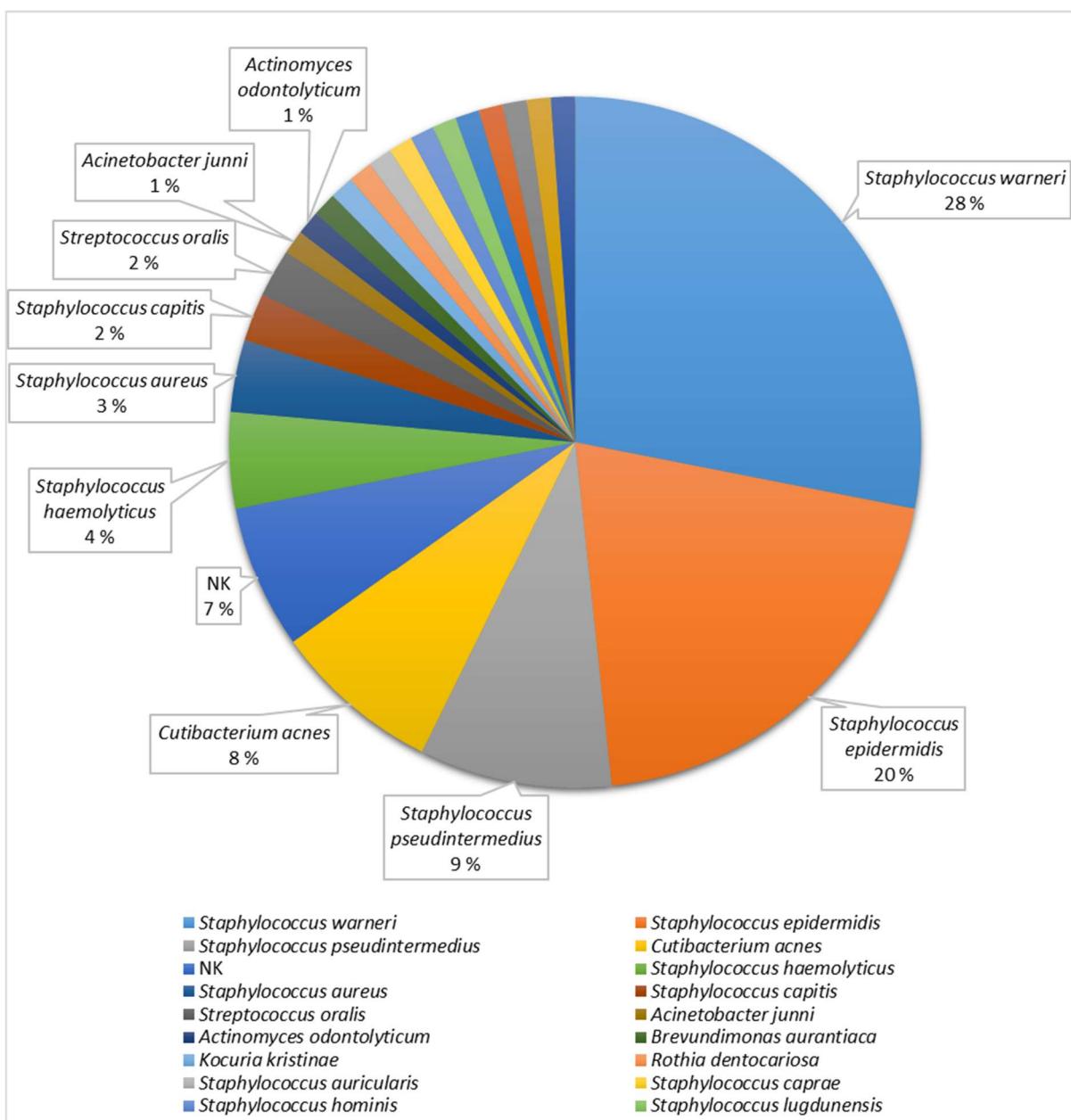
Figure 17: Bacterial species isolated from the samples of placenta of the puppies in emergency caesarean sections

Tabela 11: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz vzorcev mekonija mladičev
Table 11: Bacterial species isolated from the meconium samples of the puppies

| Po Gramu + bakterije | Po Gramu – bakterije |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Staphylococcus</i> <i>S. warneri</i> <i>S. hominis</i> <i>S. haemolyticus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. aureus</i> <i>S. capitis</i> <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. lugdunensis</i> <i>S. sanguinis</i> <i>S. pettenkoferi</i> <i>S. caprae</i> <i>S. auricularis</i> <i>S. saccharolyticus</i> <i>S. arlettae</i> <i>Staphylococcus spp.</i> | <i>Neisseria</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>N. weaveri</i> |
| <i>Streptococcus</i> <i>S. salivarius</i> <i>S. mitis</i> <i>S. pluranimalium</i> <i>S. oralis</i> <i>S. parasanguinis</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>Streptococcus spp.</i> | <i>Pasteurella</i> <i>P. stomatis</i> <i>P. multocida</i> <i>P. dagmatis</i> |
| <i>Actinomyces</i> <i>A. odontolyticum</i> <i>A. canis</i> | <i>Haemophilus</i> <i>H. haemoglobinophilus</i> <i>Haemophilus spp.</i> |
| <i>Corynebacterium spp.</i> | <i>Moraxella spp.</i> |
| <i>Rothia</i> <i>R. dentocariosa</i> <i>R. mucilaginosa</i> | <i>Bergeyella zoohelcum</i> |
| <i>Lactobacillus</i> <i>L. johnsonii</i> <i>Lactobacillus spp.</i> | <i>Acinetobacter</i> <i>A. junni</i> <i>A. lwoffii</i> |
| <i>Arthrobacter spp.</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| <i>Bacillus</i> <i>B. flexus</i> <i>B. megaterium</i> <i>B. pumilus</i> <i>B. thuringiensis</i> <i>B. simplex</i> <i>Bacillus spp.</i> | <i>Brevundimonas aurantiaca</i> |
| <i>Kocuria</i> <i>K. kristinae</i> <i>Kocuria spp.</i> | |
| <i>Macroccoccus caseolyticus</i> | |
| <i>Streptomyces spp.</i> | |
| <i>Lactococcus lactis</i> | |
| <i>Cutibacterium</i> <i>C. acnes</i> <i>C. granulosum</i> | |
| <i>Finegoldia magna</i> | |

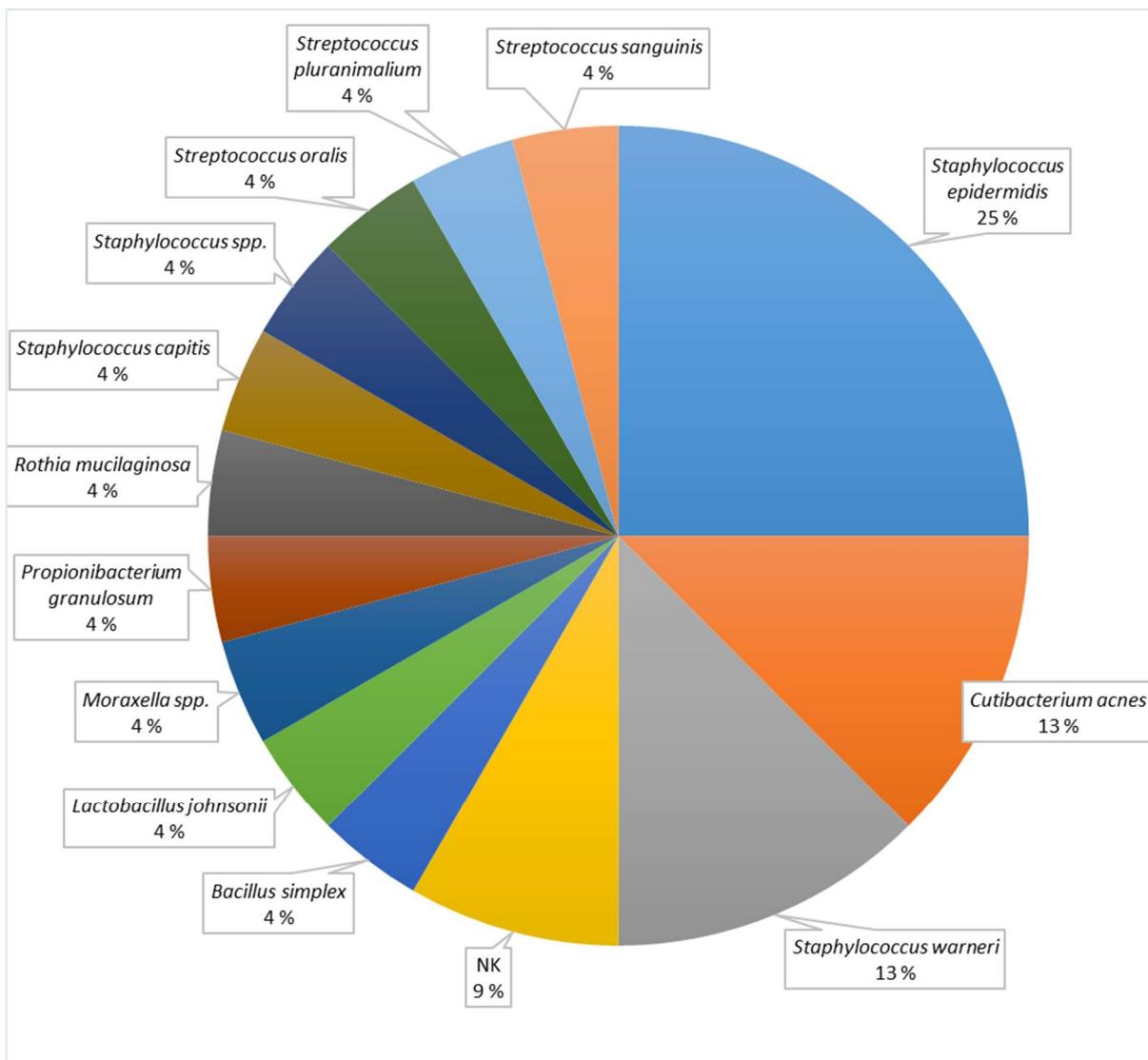


Slika 21: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz vzorcev mekonijev mladičev pri vaginalnih porodih
Figure 18: Bacterial species isolated from the samples of meconium of the puppies in vaginal births



Slika 22: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz vzorcev mekonijev mladičev pri elektivnih carskih rezih

Figure 19: Bacterial species isolated from the samples of meconium of the puppies in elective caesarean sections



Slika 23: Bakterijske vrste, ki smo jih izolirali iz vzorcev mekonijev mladičev pri urgentnih carskih rezih

Figure 20: Bacterial species isolated from the samples of meconium of the puppies in emergency caesarean sections

4.4.2 Izolirane bakterije iz vzorcev mekonija in posteljice

Pridobili smo vzorce posteljice od 79 (82,3 %) mladičev. Od tega iz 34 (43 %) nismo izolirali nobenih bakterij. Vzorce mekonija smo pridobili od 89 mladičev. Od tega iz 12 (13,5 %) nismo izolirali nobenih bakterij.

4.5 PRIMERJAVA MIKROBIOTE MATERE IN MLADIČEV GLEDE NA TIP PORODA

Pri 66,6 % carskih rezov (pri 77,9 % urgentnih in 50 % elektivnih) in pri vseh vaginalnih porodih smo izolirali enake bakterijske vrste pri materi in njenih mladičih.

Pri 30 % porodov smo izolirali enake bakterijske vrste pri materi in vzorcih posteljic mladičev, pri 25 % porodov iz brisov sluznice nožnice matere in vzorcev posteljice mladičev, pri 40 % pa iz brisov ustne sluznice matere in iz vzorcev mekonijev mladičev ter pri 45 % iz brisov sluznice nožnice matere in iz vzorcev mekonijev mladičev.

Tabela 12: Odstotek porodov, pri katerih smo izolirali iste bakterijske vrste pri materi in njenih mladičih

Table 12: The percentage of births in which we isolated the same bacterial species from the mothers and their puppies

| | Carski rez (%) | Vaginalni porod (%) |
|---------|----------------|---------------------|
| VB → PL | 20 | 40 |
| VB → M | 33 | 80 |
| OB → PL | 26 | 40 |
| OB → M | 26 | 80 |

Legenda: VB = sluznice nožnice, OB = ustna sluznica, PL = posteljica, M = mekonij

Tabela 13: Odstotek mladičev, pri katerih smo izolirali enake bakterijske vrste iz brisov ustne sluznice in/ali sluznice nožnice ter vzorcev mekonijev in/ali posteljic

Table 13: The percentage of puppies in which the same bacterial species were isolated from samples of oral mucosa and/or vaginal mucosa and samples of meconium and/or placentas

| ŠT | VAGINALNI POROD | | | | | CARSKI REZ | | | | | | | | | | URGENTNI CR | | | | |
|-------|-----------------|----|-----|-----|----|--------------|----|----|-----|----|-----|----|----|----|-----|-------------|----|----|----|----|
| | | | | | | ELEKTIVNI CR | | | | | | | | | | URGENTNI CR | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
| VB | 40 | 0 | 57 | 0 | 0 | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11 | 11 | |
| VB-M | 10 | 0 | 14, | 16, | 25 | 50 | 10 | 0 | 33, | 0 | 28, | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| OB-PL | 0 | 25 | 14, | 0 | 0 | 0 | 0 | 25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11 | 11 | |
| OB-M | 0 | 75 | 71 | 33, | 75 | 0 | 10 | 75 | 0 | 0 | 0 | 0 | 50 | 0 | 16, | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | | | 3 | | | | 0 | | | | | | | 6 | | | | | |

Legenda: VB = sluznica nožnice, OB = ustna sluznica, PL = posteljica, M = mekonij

Pri 30 % porodov smo izolirali iste bakterijske vrste iz brisov sluznice nožnice ter iz vzorcev kolostruma, pri 20 % pa iz vzorcev kolostruma in brisov ustne sluznice.

4.5.1 Povezava med ustno sluznico matere in mekonijem ter posteljico mladičev

Iz ustne sluznice mater, posteljic in mekonijev mladičev je bilo izoliranih veliko različnih bakterijskih vrst. Tabela 30 prikazuje bakterijske rodove, ki so bili izolirani samo pri mladičih, samo v ustni sluznici matere, in tiste, ki so se pojavili tako pri materi kot mladičih (označeni z *).

Tabela 14: Bakterijski rodovi, ki so jim pripadale bakterije, izolirane iz vzorcev posteljice in mekonija mladičev ter brisov ustne sluznice pri materi in povezave med njimi

Table 14: Bacterial genera isolated from samples of placenta and meconium of the puppies and samples of oral mucosa of the mothers and correlations among them

| Rodovi bakterij, izoliranih samo iz mekonija in posteljice | Rodovi bakterij, izoliranih samo iz brisa ustne sluznice matere | Rodovi bakterij, izoliranih iz vzorcev matere in mladičev |
|------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Kocuria</i> | <i>Enterococcus</i> | <i>Staphylococcus</i> * |
| <i>Bacillus</i> | <i>Pseudomonas</i> | <i>Streptococcus</i> * |
| <i>Macrococcus</i> | <i>Porphyromonas</i> | <i>Cutibacterium</i> * |
| <i>Acinetobacter</i> | <i>Prevotella</i> | <i>Moraxella</i> * |
| <i>Brevundimonas</i> | <i>Bacteroides</i> | <i>Neisseria</i> * |
| <i>Streptomyces</i> | <i>Gardnerella</i> | <i>Lactobacillus</i> * |
| <i>Lactococcus</i> | <i>Haemophilus</i> | <i>Haemophilus</i> * |
| <i>Finegoldia</i> | <i>Peptostreptococcus</i> | <i>Actinomyces</i> * |
| <i>Lactobacillus</i> | <i>Canibacter</i> | <i>Arthrobacter</i> * |
| <i>Pantoea</i> | <i>Mycoplasma</i> | <i>Klebsiella</i> * |
| <i>Finegoldia</i> | <i>Streptobacillus</i> | <i>Bergeyella</i> * |
| | <i>Paracoccus</i> | <i>Acinetobacter</i> <i>Escherichia</i> <i>Pasteurella</i> <i>Rothia</i> <i>Corynebacterium</i> |

Legenda: * = bakterijski rodovi, izolirani tako pri materi kot tudi pri njenih mladičih

4.5.2 Povezava med sluznico nožnice matere in mekonijem ter posteljico mladičev

Tudi iz sluznice nožnice je bilo izoliranih veliko različnih bakterijskih vrst. Tabela 31 prikazuje bakterijske rodove, ki so bili izolirani samo pri mladičih, samo v sluznici nožnice matere, in tiste, ki so se pojavili tako pri materi kot mladičih (označeni z *).

Tabela 15: Bakterijski rodovi, ki so jim pripadale bakterije, izolirane iz vzorcev posteljic in mekonijev mladičev ter brisov sluznice nožnice pri materi in povezave med njimi

Table 15: Bacterial genera isolated from samples of placenta and meconium of the puppies and samples of vaginal mucosa of the mothers and correlations among them

| Rodovi bakterij, izoliranih samo iz mekonija in posteljice | Rodovi bakterij, izoliranih samo iz brisa nožnice matere | Rodovi bakterij, izoliranih iz vzorcev matere in mladičev |
|------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| <i>Kocuria</i> | <i>Pseudomonas</i> | <i>Staphylococcus</i> * |
| <i>Macrococcus</i> | <i>Enterococcus</i> | <i>Streptococcus</i> * |
| <i>Acinetobacter</i> | <i>Eubacterium</i> | <i>Haemophilus</i> * |
| <i>Brevundimonas</i> | <i>Rhodococcus</i> | <i>Cutibacterium</i> * |
| <i>Streptomyces</i> | <i>Arcanobacterium</i> | <i>Corynebacterium</i> |
| <i>Lactococcus</i> | <i>Streptobacillus</i> | <i>Escherichia</i> |
| <i>Finegoldia</i> | <i>Clostridium</i> | <i>Neisseria</i> |
| <i>Finegoldia</i> | <i>Mycoplasma</i> | <i>Bacillus</i> |
| <i>Lactobacillus</i> | | <i>Lactobacillus</i> |
| <i>Actinomyces</i> | | <i>Klebsiella</i> |
| <i>Arthrobacter</i> | | <i>Rothia</i> |
| <i>Bergeyella</i> | | <i>Moraxella</i> |
| <i>Acinetobacter</i> | | <i>Pasteurella</i> |
| | | <i>Pantoea</i> |

Legenda: * = bakterijski rodovi, izolirani tako pri materi kot tudi pri njenih mladičih

4.5.3 Prevladujoči bakterijski rodovi, izolirani iz vzorcev mekonija in posteljice

Iz vzorcev mekonijev smo izolirali 59 različnih vrst bakterij, ki so pripadale 23 različnim rodovom. Iz vzorcev posteljic smo izolirali 29 različnih bakterijskih vrst, ki so pripadale 15 različnim rodovom. Tabela 16 prikazuje najpogosteje bakterijske rodove, ki smo jih izolirali iz mekonijev in posteljic, ter delež le-teh.

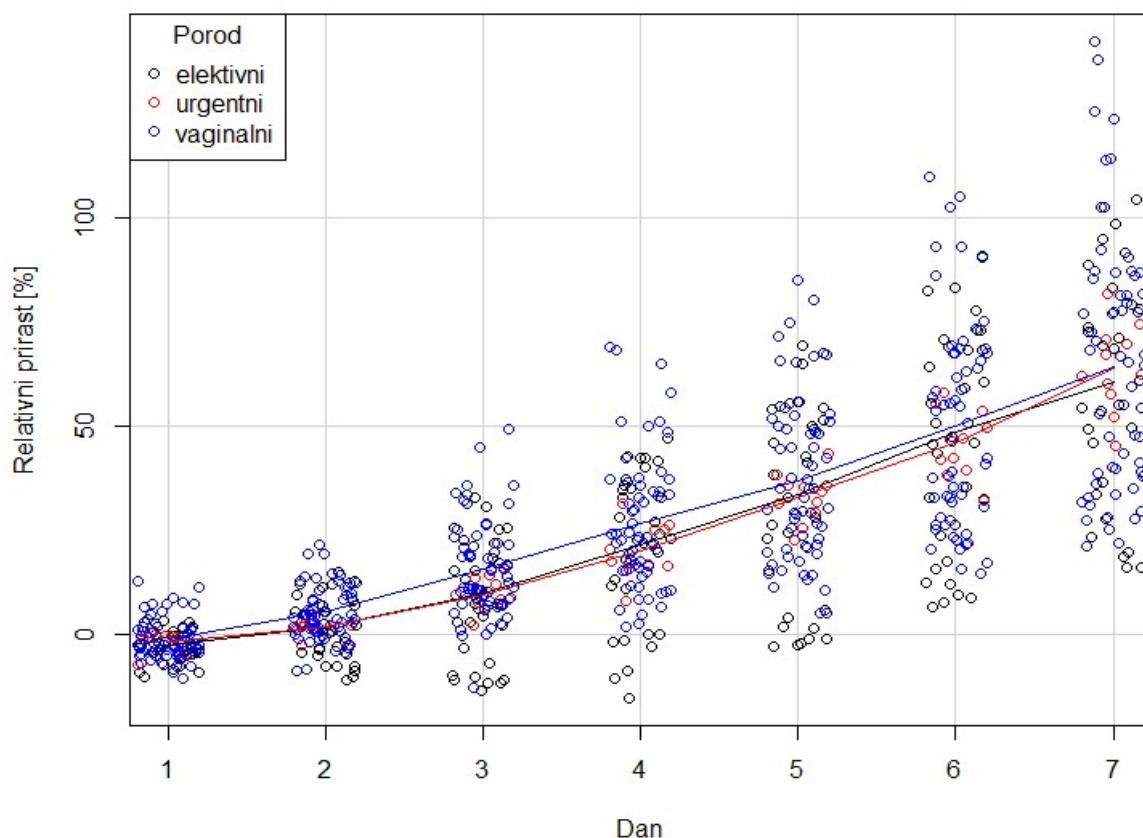
Tabela 16: Deleži (%) najpogosteje zastopanih bakterijskih rodov, izoliranih iz vzorcev posteljic in mekonijev mladičev

Table 16: Prevalent (%) bacterial species isolated from meconium and placental samples of puppies

| Mekoniji | delež [%] | Posteljice | delež [%] |
|-----------------------|-----------|-----------------------|-----------|
| <i>Staphylococcus</i> | 49,2 | <i>Staphylococcus</i> | 43,75 |
| <i>Cutibacterium</i> | 7,73 | <i>Streptococcus</i> | 10,0 |
| <i>Streptococcus</i> | 7,25 | <i>Cutibacterium</i> | 8,75 |
| <i>Neisseria</i> | 5,32 | <i>Lactobacillus</i> | 5,0 |
| <i>Bacillus</i> | 3,86 | <i>Bacillus</i> | 2,5 |
| <i>Pasteurella</i> | 2,42 | <i>Klebsiella</i> | 2,5 |
| <i>Rothia</i> | 1,45 | <i>Pasteurella</i> | 2,5 |
| <i>Kocuria</i> | 1,45 | <i>Escherichia</i> | 2,5 |
| <i>Acinetobacter</i> | 1,45 | | |
| <i>Haemophilus</i> | 1,45 | | |

4.6 RELATIVNI PRIRAST

Relativni prirast mladičev je bil izračunan kot relativna spremembra telesne mase glede na začetno maso mladiča. Najvišji prirast so imeli mladiči, skoteni z vaginalnim porodom, najnižjega pa tisti, ki so se porodili z elektivnim carskim rezom. Slika 21 prikazuje povprečno vrednost relativnih prirastov mladičev iz vseh treh tipov poroda.



Slika 24: Relativni prirasti mladičev v prvem tednu (s črtami so prikazana povprečja glede na tip poroda)

Figure 21: Relative puppy weight gain in the 1st week (the lines represent weight gain average according to parturition type)

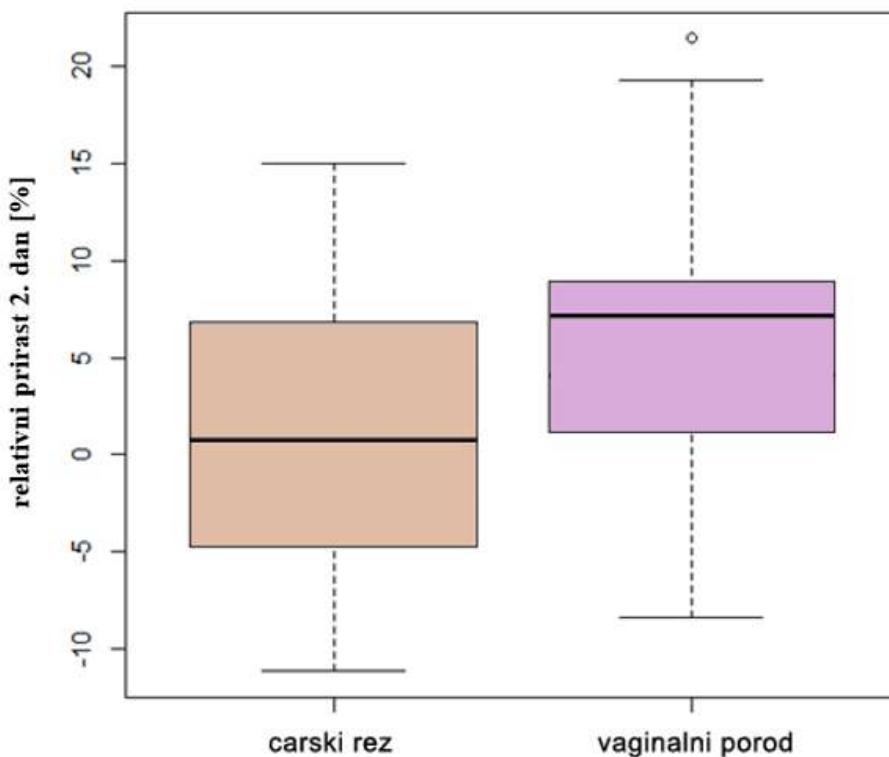
Tabela 17: Povprečja relativnih prirastov mladičev, rojenih s carskim rezom (elektivni in urgentni CR) in z vaginalnim porodom v prvih sedmih dneh po porodu

Table 17: Averages of relative weight gain in the 1st week after birth of puppies born with cesarean section (elective or urgent CS) and vaginal delivery

| Dan | Relativni prirast (povprečje ± sd) [%] | |
|-----|----------------------------------------|-----------------|
| | carski rez | vaginalni porod |
| 1 | -3,29 ± 3,55 | -1,47 ± 4,23 |
| 2 | 1,34 ± 8,08 | 7,36 ± 6,28 |
| 3 | 9,13 ± 13,52 | 17,23 ± 12,54 |
| 4 | 19,76 ± 19,16 | 28,48 ± 19,73 |
| 5 | 33,14 ± 20,33 | 40,52 ± 19,81 |
| 6 | 48,01 ± 29,23 | 53,48 ± 23,29 |
| 7 | 63,40 ± 31,42 | 69,86 ± 34,48 |

Primerjali smo skupini carskega reza in vaginalnega poroda in ugotovili statistično značilne razlike v relativnem prirastu med mladiči, ki so bili skoteni z vaginalnim porodom in s carskim rezom drugi, tretji in četrti dan. Mladiči, skoteni z vaginalnim porodom, so priraščali bolje.

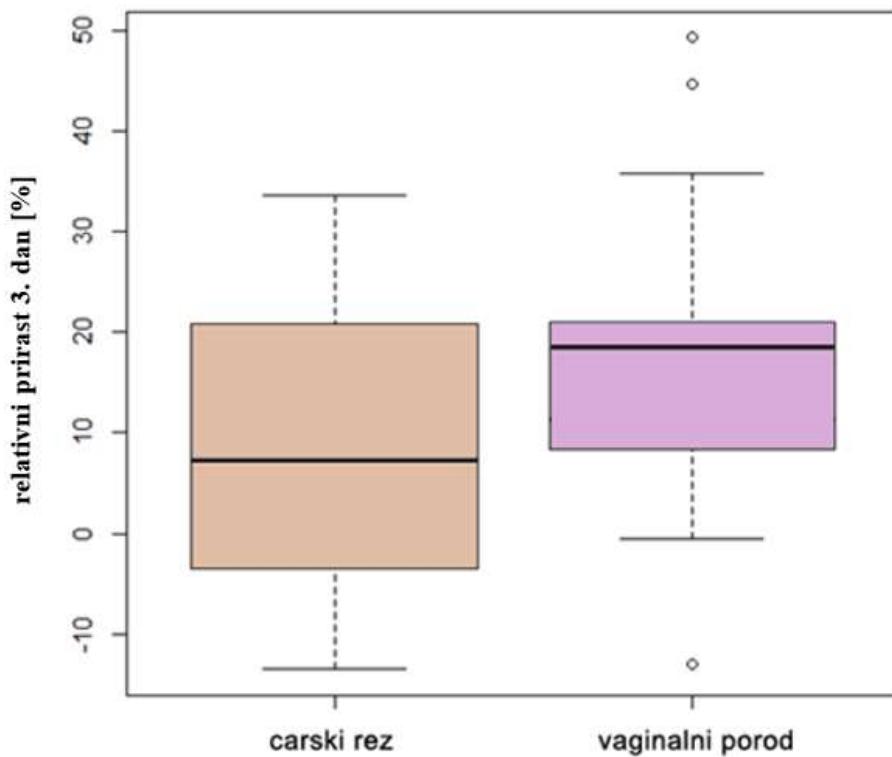
Razlika v prirastu na drugi dan med mladiči, skotenimi s carskim rezom in z vaginalnim porodom, je bila statistično značilna ($p < 0,01$) (Slika 22).



Slika 25: Primerjava relativnega prirasta mladičev na drugi dan med mladiči, ki so bili skoteni s carskim rezom in z vaginalnim porodom

Figure 22: A comparison of relative weight increase on the 2nd day in puppies born with caesarian section and vaginal parturition

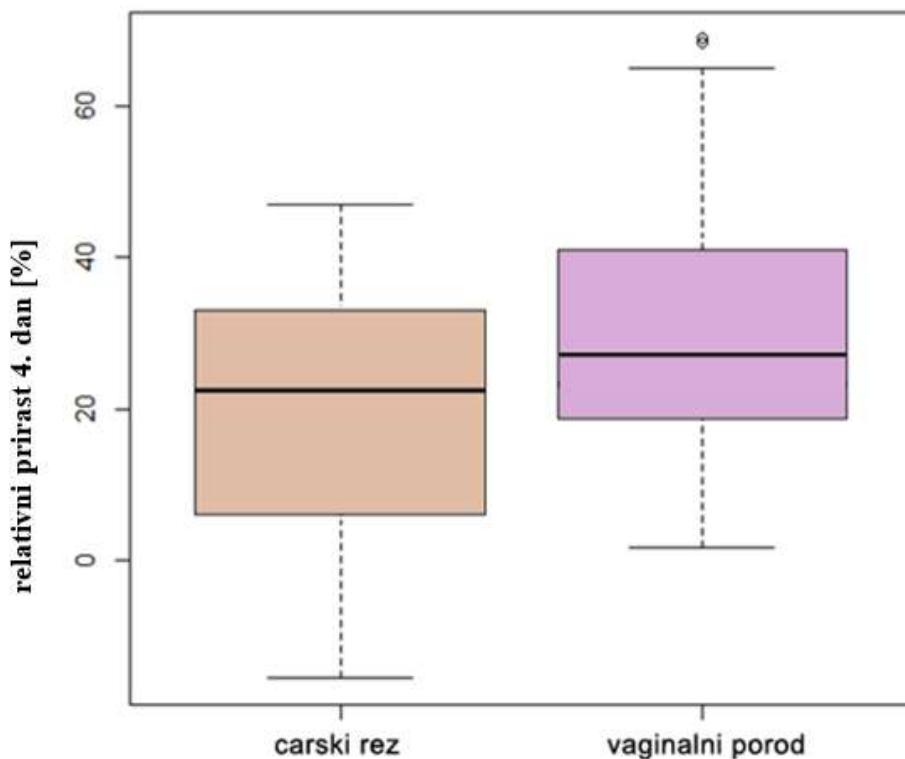
Razlika v prirastu na tretji dan med mladiči, skoteni z elektivnim carskim rezom in vaginalnim porodom, je bila statistično značilna ($p < 0,05$) (Slika 23).



Slika 26: Primerjava relativnega prirasta mladičev na tretji dan med mladiči, ki so bili skoteni s carskim rezom in z vaginalnim porodom

Figure 23: A comparison of relative weight increase on the 3rd day in puppies born with caesarian section and vaginal parturition

Tudi razlika v prirastu na četrtni dan med mladiči, skoteni s carskim rezom in z vaginalnim porodom, je bila statistično značilna ($p < 0,05$) (Slika 24).



Slika 27: Primerjava relativnega prirasta mladičev na četrtni dan med mladiči, ki so bili skoteni s carskim rezom in z vaginalnim porodom

Figure 24: A comparison of relative weight increase on the 4th day in puppies born with caesarian section and vaginal parturition

Prirast smo spremljali vse do osmega tedna starosti, vendar kasneje ni bilo več opaziti statistično značilnih razlik v relativnem prirastu med mladiči, skoteni z vaginalnim porodom ali s carskim rezom ($p > 0,05$).

4.6.1 Razlika v relativnem prirastu med novorojenimi samci in samicami

Razlik v telesni masi med samicami in samci ni bilo, prav tako se statistično značilno ni razlikoval prirast med samicami in samci vse do osmega tedna starosti ($p > 0,05$).

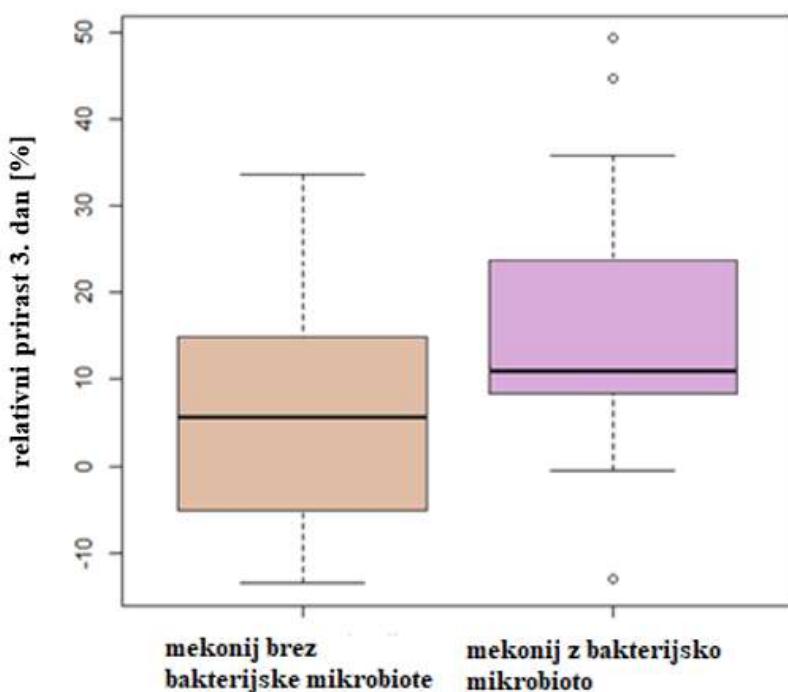
4.7 PREŽIVETJE MLADIČEV V PRVIH TEDNIH ŽIVLJENJA

Preživetje mladičev v prvih osmih tednih je bilo 96,7 %, če izvzamemo mladiče, ki so bili mrtvorojeni. 3,3 % mladičev je poginilo v prvem tednu življenja.

4.8 RELATIVNI PRIRAST IN PRISOTNOST BAKTERIJ

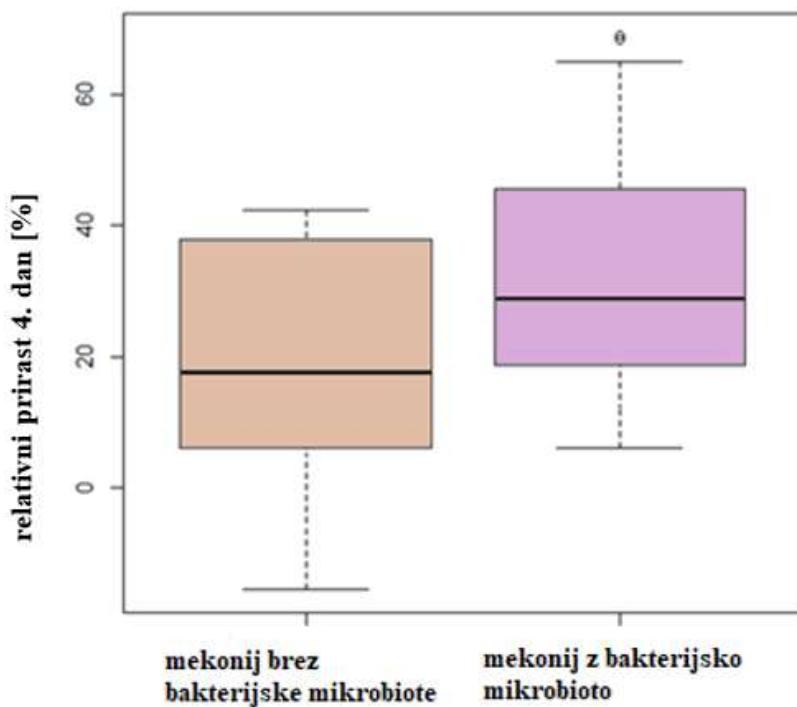
4.8.1 Povezava med relativnim prirastom pri mladičih z mekonijem brez bakterijske mikrobiote v primerjavi z mladiči, ki so ob rojstvu imeli prisotne bakterije v mekoniju

Mladiči, z mekonijem brez bakterijske mikrobiote, so priraščali počasneje kot mladiči, pri katerih smo iz mekonija izolirali posamezne bakterijske kulture. Čeprav prvi in drugi dan nismo zaznali statistično značilnih razlik ($p > 0,05$), je bila tretji (Slika 25) in četrti dan (Slika 26) razlika v relativnem prirastu statistično značilna ($p < 0,05$). Razlike v prirastu so bile opazne tudi peti in šesti dan, vendar so bile na meji statistične značilnosti ($p = 0,06$; $p = 0,07$). Po tem obdobju med mladiči ni bilo več statistično značilnih razlik v relativnem prirastu ($p > 0,05$).



Slika 28: Primerjava relativnega prirasta mladičev na tretji dan med mladiči, ki so ob rojstvu imeli v mekoniju prisotne bakterijske kulture, in mladiči, pri katerih je bil mekonij brez bakterijske mikrobiote

Figure 25: A comparison of relative weight increase on the 3rd day in puppies that had their own bacterial microbiota in the meconium at birth and puppies with meconium without bacterial microbiota

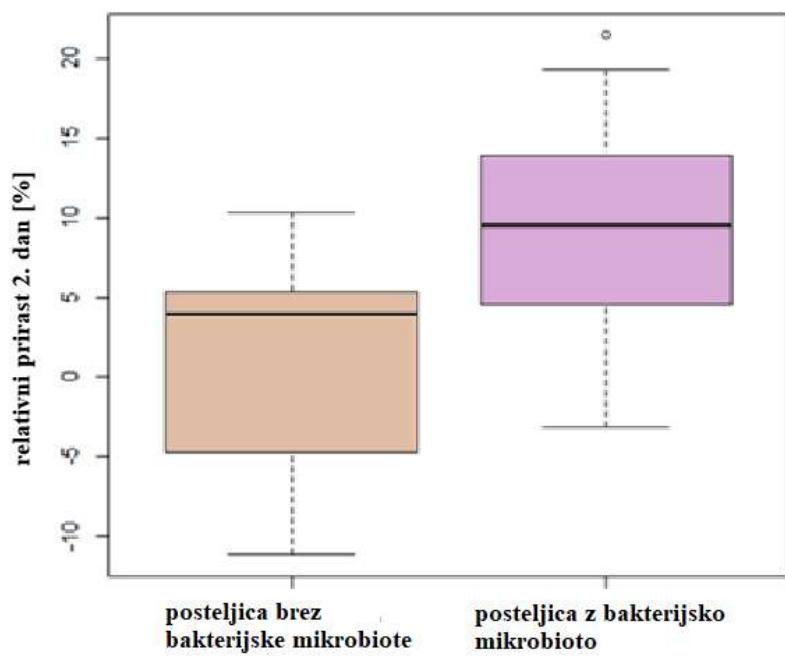


Slika 29: Primerjava relativnega prirasta mladičev na četrti dan med mladiči, ki so ob rojstvu imeli v mekoniju prisotne bakterijske kulture, in mladiči, pri katerih je bil mekonij brez bakterijske mikrobiote

Figure 26: A comparison of relative weight increase on the 4th day in puppies that had their own bacterial microbiota in the meconium at birth and puppies with meconium without bacterial microbiota

4.8.2 Povezava med relativnim prirastom pri mladičih s posteljico brez bakterijske mikrobiote v primerjavi z mladiči, ki so ob rojstvu imeli prisotne bakterije v posteljici

Mladiči, pri katerih v posteljici nismo našli bakterij, so v prvih dneh življenja priraščali počasneje kot mladiči, pri katerih smo iz posteljice izolirali posamezne bakterijske kulture. Čeprav prvi dan nismo zaznali statistično značilne razlike ($p > 0,05$), je s kliničnega vidika zelo pomemben podatek, da so mladiči, pri katerih iz posteljice nismo izolirali bakterij, prvi dan izgubili na teži povprečno 1,9 % telesne mase, mladiči, pri katerih pa smo iz posteljice izolirali posamezne bakterije, pa so prvi dan v povprečju pridobili na telesni masi 0,06 %. Drugi dan je bila razlika v prirastu med mladiči, pri katerih smo izolirali bakterije iz posteljice, statistično značilno večja kot pri mladičih, ki so imeli posteljico brez bakterijske mikrobiote (Slika 27) ($p < 0,05$). Statističnih razlik v relativnem prirastu med skupinami kasneje ni bilo ($p > 0,05$).



Slika 30: Primerjava relativnega prirasta mladičev na drugi dan med mladiči, ki so ob rojstvu imeli v posteljici prisotne bakterijske kulture, in mladiči, pri katerih je bila posteljica brez bakterijske mikrobiote

Figure 27: A comparison of relative weight increase on the 2nd day in puppies that had their own bacterial microbiota in the placenta at birth and puppies with placenta without microbiota

5 RAZPRAVA

Naša raziskava je bila načrtovana in opravljena na podlagi različnih ugotovitev s področja humane medicine, kjer so bile opravljene številne raziskave o povezavi med normalno mikrobioto mater in njihovih zdravih novorojencev. Zaradi anatomskih in fizioloških posebnosti rodil in spolnega ciklusa, predvsem pa zaradi različne običajne mikrobiote ljudi in živali, ugotovitev iz humane medicine ni mogoče posplošiti in uporabiti v veterinarski medicini. Doslej so že bile opravljene manjše identične raziskave na miših, nismo pa zasledili nobenih podatkov, ki bi se nanašali na povezavo v sestavi mikrobiote psic in njihovih novorojencev. Predvidevali smo, da imajo pasji novorojenčki podobne povezave z materjo, kot je bilo to ugotovljeno pri ljudeh. Naše domneve smo preverjali v okviru treh hipotez, ki so se nanašale na reprodukcijske in mikrobiološke posebnosti psov.

Hipoteza 1: Pasji mladiči se skotijo z lastno bakterijsko mikrobioto ne glede na način poroda

V nosečnosti pride do korenitih sprememb v mikrobioti pri materi in zarodku. Pri materi se spremenita predvsem mikrobiota črevesja, nožnice in ustne votline (Chu in sod., 2018; Koren in sod., 2012; Nuriel-Ohayon in sod., 2016; Fujiwara in sod., 2015). Kljub temu da je dolgo prevladovalo mnenje, da se zarodek razvija v sterilnem okolju, nekatere nedavne raziskave kažejo na to, da so bakterije prisotne v zarodkovem okolju pri zdravih nosečnostih in tvorijo mikrobiom posteljice, ki kasneje kolonizira tudi zarodek (Perez-Muñoz in sod., 2017; Aagaard in sod., 2014; Jiménez in sod., 2008; Collado in sod., 2016; Wassenaar in Panigrahi, 2014). Pri psih je že delno raziskana bakterijska mikrobiota gastrointestinalnega trakta in iztrebkov (Hooda, 2012; Deng, 2015; Suchodolski, 2011; Garcia-Mazcorro, 2012), dihal (pljuč in nosne votline) (Tress, 2019; Ericsson, 2016), kože (tudi sluhovoda) (Rodrigues Hoffmann, 2014; Suttiwe, 2019; Ngo, 2018; Korbelik, 2019), ustne votline (McDonald, 2016; Oh, 2016), nožnice (Hutchins, 2014), maternice (Lyman, 2019), očesnih veznic (Leis, 2019) in urinarnega sistema (Burton, 2017).

Po naših podatkih še ni objavljenih raziskav, ki bi opisovale mikrobioto novorojenih pasjih mladičev. V naši raziskovalni nalogi smo izolirali posamezne bakterijske kolonije iz vzorcev posteljice in mekonija mladičev. Pridobili smo 89 vzorcev mekonija in iz njih v 86,5 % izolirali posamezne bakterijske kolonije, najpogosteje iz rodov: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Cutibacterium*, *Pasteurella*, *Rothia*, *Bacillus*, *Acinetobacter* in *Haemophilus*. Iz

mekonija so bile najpogosteje izolirane bakterije *S. warneri*, *S. epidermidis*, *S. pseudintermedius*, *C. acnes* in *N. zoodegmatis*. Pridobili smo 73 posteljic in iz njih v 57 % primerov izolirali posamezne bakterijske kolonije, najpogosteje iz rodov *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Cutibacterium*, *Pasteurella*, *Bacillus* in *Lactobacillus*. Najpogostejše bakterije, ki smo jih izolirali iz posteljice, so *S. epidermidis*, *S. warneri*, *C. acnes*, *S. pseudintermedius* in *S. haemolyticus*. Vzorce smo odvzeli na sterilen način in jih takoj nasadili na gojišče. S tem smo ohranili tudi anaerobne bakterijske vrste, ki bi jih sicer lahko izgubili ob transportu vzorca do laboratorija.

Za oceno po Apgarjevi smo mladiče v naši raziskavi razdelili glede na tip poroda v tri skupine: vaginalni porod, urgentni in elektivni carski rez. Z določanjem ocene po Apgarjevi smo ugotovili, da so imeli mladiči, skoteni z vaginalnim porodom, pri 5 in 15 minutah po rojstvu najvišje število točk, sledili so mladiči, skoteni z urgentnim carskim rezom, in nazadnje še z elektivnim carskim rezom. Po petih minutah po porodu je bilo največ dobro vitalnih mladičev v skupini, ki so bili skoteni z vaginalnim porodom. Tisti, ki so bili skoteni z urgentnim ali elektivnim carskim rezom, so bili slabše vitalni. Po 15 minutah ni bilo več statistično značilne razlike med mladiči, skotenimi z vaginalnim porodom in urgentnim carskim rezom. Tudi v naši raziskavi smo, podobno kot Titkova in sodelavci (2017), ugotovili, da so bili vsi mladiči, skoteni z vaginalnim porodom, dobro vitalni že po petih minutah. Skladno z našimi ugotovitvami so Groppetti in sodelavci (2010) dognali, da je bila večina mladičev deset minut po tem, ko so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, slabo vitalnih. V naši raziskavi je bilo v vsaki skupini mladičev glede na oceno po Apgarjevi po 15 minutah največ dobro vitalnih. To pomeni, da so si z našo pomočjo zelo hitro opomogli tudi tisti mladiči, ki so se skotili z elektivnim carskim rezom. Treba je izpostaviti, da so imeli mladiči, skoteni z elektivnim carskim rezom, še vedno manj točk po oceni po Apgarjevi in bili so slabše vitalni kot tisti, ki so se skotili z urgentnim carskim rezom. Mladiči, skoteni z vaginalnim porodom, so po 15 minutah ohranili najvišje vrednosti.

Ko smo raziskovali povezavo med oceno po Apgarjevi in tipom poroda ter razporejali mladiče v skupine glede na vitalnost, smo ugotovili, da je bil največji delež mladičev v skupini vaginalnega in urgentnega carskega reza po petih minutah dobro vitalen, v skupini elektivnih carskih rezov pa je bil največji delež slabo vitalnih mladičev. Tisti mladiči, pri katerih je bila vzrok za urgentni carski rez obstruktivna distocija, so imeli od vseh mladičev, skotenih z urgentnim carskim rezom, nižje ocene po Apgarjevi po petih minutah ali so se skotili mrtvi. Ne

glede na to je imela skupina mladičev, ki so se skotili z urgentnim carskim rezom, višjo skupno oceno po Apgarjevi po petih minutah kot tista skupina novorojenih, ki so se skotili z elektivnim carskim rezom, saj so ostali mladiči v skupini urgentnih carskih rezov imeli visoke ocene po Apgarjevi (tisti mladiči, pri katerih vzrok za urgentni carski rez ni bila obstruktivna distocija). Urgentni carski rez smo opravili čim prej in v skladu s smernicami in tako zmanjšali negativne učinke distocije na mladiče. Z vsemi lastniki smo bili ob pridobitvi soglasja o sodelovanju v raziskavi dogovorjeni, kako bomo ukrepali ob možni distociji, zato smo urgentne carske reze izvedli, še preden so bili psica in plodovi v resni življenjski nevarnosti. Možno je, da je to razlog, zakaj so mladiči, skoteni z urgentnim carskim rezom, postali po porodu tako hitro vitalni.

Elektivni carski rez se je izvedel, preden se je začel proces naravnega poroda, zato so se mladiči rodili pred rokom. Ko se je znižala koncentracija serumskega progesterona na 5 ng/ml, kar je približno 1–2 dni pred začetkom predvidenega vaginalnega poroda, smo izvedli elektivni carski rez. V literaturi še ni opisanih podatkov o sekreciji kortizola iz plodove nadledvične žleze pri psih, ki bi povzročila padec progesterona in začetek poroda. Povišan kortizol povezujejo s stresom, ki ga psica doživlja ob gradnji gnezda, s fizično aktivnostjo pred porodom in krčenjem maternice (Taverne in Noakes, 2019). Kortizol povzroča zorenje tkiva pri mladiču, zato je verjetna razloga za najnižjo vitalnost in najnižje ocene po Apgarjevi pri mladičih, skotenih z elektivnim carskim rezom, to, da ni prišlo do sproščanja kortizola, ki je nujen za razvoj vitalnih funkcij mladiča (Bagnoli in sod., 2013).

Določanje LH-vala, dneva ovulacije ali prvega dneva diestrusa veljajo za najbolj zanesljive metode za določanje časa, kdaj je plod pripravljen na porod, vendar nobena od teh metod ni popolnoma točna. Če dan LH-vala ni znan, je zanesljiva še metoda merjenja velikosti zunaj plodovih struktur z ultrazvokom. Če dodamo še merjenje fetalnih struktur in merjenje velikosti organov mladičev, skupaj z radiografijo, nam to lahko pomaga napovedati točnejši čas poroda (Lopate, 2008). V naši raziskavi smo čas elektivnega carskega reza določevali na podlagi merjenja padca telesne temperature in padca koncentracije serumskega progesterona, saj bi vse dodatne metode prinesle lastnikom veliko dodatnih stroškov in zahtevale veliko več časa, saj so bili vključeni v preiskavo iz različnih koncev Slovenije, mi pa smo hoteli enako obravnavo vseh pacientk. Zato se za dodatne preiskave, s katerimi bi določili najprimernejši čas za izvedbo elektivnega carskega reza, nismo odločili.

Pri izvedbi carskih rezov, urgentnih in tudi elektivnih, smo uporabljali enega izmed najvarnejših anestezijskih protokolov. Uporabljali smo kombinacijo propofola za indukcijo anestezije in sevoflurana za vzdrževanje anestezije. Mladiči, skoteni s carskim rezom, so bili pod vplivom anestetikov, kar je verjetno razlog za njihovo slabšo vitalnost v nasprotju z mladiči, rojenimi z vaginalnim porodom. Propofol se v organizmu hitro razporedi in presnovi, zato se je verjetno ocena po Apgarjevi pri večini mladičev, rojenih s carskih rezom, po 15 minutah dvignila nad 7 oziroma so postali dobro vitalni (Doebeli in sod., 2013). Matere in mladiči niso prejemali (ne glede na tip poroda) nobenih drugih zdravil, ki bi na kakršen koli način vplivala na našo raziskavo.

V raziskavi, ki so jo izvedli Forti-Buratti in sodelavci (2017), imajo otroci, rojeni z elektivnim carskim rezom, višjo oceno po Apgarjevi po petih minutah kot otroci, rojeni z urgentnim carskim rezom. V naši raziskavi pa imajo mladiči, rojeni z elektivnim carskim rezom, nižjo oceno. Skupne ocene po Apgarjevi pri mladičih, ki so se skotili posamezni psici z urgentnim carskim rezom, so višje; tisti mladič, ki je bil vzrok za obstruktivno distocijo, pa je imel nižjo oceno. Verjetno smo urgentni carski rez opravili dovolj zgodaj in se izognili vplivu na ostale mladiče v leglu. Ostali mladiči so ostali dobro vitalni, kar je posledično dvignilo mediano vrednosti ocene po Apgarjevi celotni skupini mladičev, ki so se skotili z urgentnim carskim rezom.

Med različnimi skupinami mladičev v številu točk ocene po Apgarjevi po 60 minutah ni bilo več statistično značilnih razlik. Vsi mladiči, ne glede na tip poroda, so si opomogli, saj so bili po 60 minutah vsi dobro vitalni (100 %). Tudi drugi raziskovalci so ugotovili izboljšanje vitalnosti mladičev po 60 minutah glede na oceno po Apgarjevi (Batista in sod., 2014, Vassalo in sod., 2015). V raziskavo so vključili 55 mladičev, skotenih s carskim rezom, in 49 mladičev, skotenih z vaginalnim porodom. Mladiči, skoteni s carskim rezom, so imeli povprečno število ocene po Apgarjevi $4,3 \pm 0,3$ ob porodu in $8,8 \pm 0,3$ po 60 minutah po rojstvu, kar kaže na izboljšanje ocene po prvi uri življenja. Ugotovili so tudi višje ocene pri mladičih, ki so se skotili z vaginalnim porodom, v primerjavi s tistimi, ki so se skotili s carskim rezom. Ti ugotovitvi se skladata z našimi rezultati.

Batista in sodelavci (2014) so v raziskavo vključili samo brahicefalične pasme, zato je bilo po 60 minutah še vedno 10,3 % slabo vitalnih mladičev. Wydooghe in sodelavci (2013) so namreč ugotovili, da so mladiči brahicefaličnih pasem po carskem rezu manj vitalni.

Perinatalna smrtnost v naši raziskavi je bila 8,3 % (8 mladičev) od tega je bilo 5,2 % (5 mladičev) mrtvorojenih, 3,1 % (3 mladiči) mladičev pa je umrlo v zgodnjem neonatalnem obdobju. Po prvem tednu ni poginil več noben pasji mladič, zato je v naši raziskavi podatek o perinatalni smrtnosti enak neonatalni. V enem leglu (5 %) je prišlo hkrati do mrtvorojenega mladiča in do ene zgodnje neonatalne smrtnosti. Glede na naše podatke o neonatalni smrtnosti je neonatalna smrtnost relativno visoka. Concannon (2002) jo opisuje s 15–25 %, Mila in sodelavci (2015a) z 20,2 %, Indrebø (2007) s 30 % in Mosier (1982) in Poffenbarfer s sodelavci (1990) tudi do 35 %. Najvišja je ob rojstvu in v zgodnjem neonatalnem obdobju (prvi teden starosti) (Gill, 2001; Indrebø in sod., 2007).

Mila in sodelavci (2017) opisujejo 4,6 % mrtvorojenosti in 13,5 % zgodnje neonatalne smrtnosti. V obsežni raziskavi Tønnessen in sodelavci (2012) opisujejo 3,7 % zgodnje neonatalne smrtnosti in 4,3 % mrtvorojenosti. Vassalo in sodelavci (2015) opisujejo 11,54 % mrtvorojenih in 2,88 % zgodnje neonatalne smrtnosti, čeprav so vsi poginili že v največ 24 urah po porodu. V avstralski raziskavi so ugotovili perinatalno smrtnost v 18,5 %, od tega je bilo 7 % mrtvorojenih in 11,5 % zgodnje neonatalne smrtnosti. V še starejši raziskavi so ti odstotki še višji (Gill, 2001; Bowden in sod., 1963).

V naši raziskavi smo obravnavali tri (15 %) legla valižanskih ovčarjev Pembroke. Od tega sta imeli dve legli (66,6 %) neonatalno smrtnost (skupaj so poginili trije mladiči). Vassalo in sodelavci (2015) so prav tako ugotovili večjo smrtnost pri tej pasmi, saj je v 50 % legal prišlo do neonatalne smrtnosti.

Razlogov za nizko neonatalno smrtnost v našem primeru je lahko veliko. Psice smo spremljali od dneva, ko smo potrdili brejost. Lastnikom smo ob potrjeni brejosti svetovali glede prehrane, aktivnosti, okolja, izračunali smo predviden datum poroda, jih podučili, kako poteka brejost in na kakšne spremembe morajo biti pozorni. Z njimi smo bili ves čas v stiku, proti koncu brejosti pa smo stanje psic intenzivneje spremljali. Tako smo lahko opazili morebitne spremembe, ki bi lahko ogrozile psico in mladiče.

Da so se psice počutile bolj sproščeno, smo pri vaginalnih porodih sodelovali kar v njenem domačem okolju. Vedno je bila prisotna ekipa s potrebeno opremo, ki je lahko nudila nujno veterinarsko pomoč. V primeru, da distocija ne bi bila rešljiva medikamentozno ali manualno, smo bili dogovorjeni za morebiten urgentni carski rez. Ker smo urgentne carske reze lahko izvedli zelo hitro po odločitvi, je bilo zelo malo izgub mladičev.

Za določitev optimalnega časa kotitve pri elektivnih carskih rezih smo že vnaprej izračunali optimalni datum poroda, kar smo dodatno preverjali z ultrazvočnimi pregledi in merjenjem koncentracije serumskega progesterona.

Ker smo bili za carske reze dobro dogovorjeni, je bila vedno na razpolago ekipa, ki je pomagala pri spremeljanju in oživljanju mladičev, če je to bilo potrebno. Poskrbeli smo, da so vsi zadihalni v najkrajšem času. Za mladiče in psico je bilo vedno pripravljeno toplo okolje z grelnimi blazinami in električnimi grelniki. Mladičem smo pomagali pri pitju kolostruma (če psica še ni imela kolostruma, so dobili komercialni pripravek) in pazili, da jih psica ni polegla. Psico in mladiče smo spremljali še štiri ure po porodu. Vsakega mladiča smo klinično pregledali. V domačo oskrbo so bili spuščeni šele, ko so bili vsi stabilni in dobro vitalni. Ob odpustu smo lastnikom podali informacije o pravilni poporodni oskrbi in jih opozorili na tiste mladiče, ki jih je bilo treba ob porodu oživljati oziroma jim nuditi intenzivno veterinarsko oskrbo, da jim v prvem tednu življenja posvečajo več pozornosti.

Vse to je verjetno vplivalo na nizko zgodnjo neonatalno smrtnost. Mogoče je tudi, da so podobni vzroki pri prej navedenih novejših raziskavah, saj se je zaradi ekonomične vrednosti mladičev in vpetosti lastnikov v rojevanje pasjih mladičev povečal interes za njihovo preživetje (Veronesi in sod., 2009), zato gre z roko v roki tudi sodelovanje z veterinarji in njihova pomoč ter posledično manjši odstotek neonatalne smrtnosti.

Hipoteza 2: Mikrobiota mekonija je povezana z oralno in vaginalno mikrobioto matere

Običajna oralna in vaginalna mikrobiota pri zdravih psicah je razmeroma dobro znana, pogostnost navajanja posameznih rodov bakterij pa je delno odvisna tudi od sposobnosti izolacije teh bakterij na umetnih gojiščih.

V naši raziskavi smo iz vzorcev ustne sluznice psic najpogosteje izolirali bakterije iz rodov *Neisseria* (13,85 %), *Streptococcus* (13,85 %), *Pasteurella* (10,77 %), *Haemophilus* (6,15 %), *Staphylococcus* (6,15 %), *Actinomyces* (5,13 %) in *Moraxella* (4,62 %), ki so razmeroma enostavne za izolacijo in jih lahko najdemo tudi na drugih sluznicah in koži.

Podobne bakterije smo ugotovili tudi v brisih nožnice psic, med njimi najpogosteje iz rodov *Staphylococcus* (22,41 %), *Streptococcus* (15,52 %), *Haemophilus* (10,34 %), *Enterococcus* (8,62 %), *Escherichia* (4,31 %) in *Neisseria* (4,31 %). Zaradi anatomskih razlogov so v nožnici prisotne tudi črevesne bakterije (*E. coli*, *Enterococcus spp.*).

Glede na podatke podobnih raziskav pri ljudeh smo pričakovali, da bomo tudi v posteljici in mekoniju pasjih mladičev našli podobne bakterije kot pri njihovih materah, in ugotovili smo, da se pasji mladiči resnično rodijo z mikrobioto, ki je podobna materini.

Glavni rodovi bakterij, ki smo jih izolirali iz vzorcev mekonija mladičev, so bili *Staphylococcus* (49,2 %), *Cutibacterium* (7,73 %), *Streptococcus* (7,25 %), *Neisseria* (5,31 %), *Pasteurella* (2,42 %), *Bacillus* (3,86 %), *Kocuria* (1,45 %), *Rothia* (1,45 %), *Acinetobacter* (1,45 %) in *Haemophilus* (1,45 %).

Iste bakterijske vrste pri materi in njenih mladičih smo izolirali pri 66,6 % carskih rezov (pri 77,9 % urgentnih in 50 % elektivnih) in pri vseh vaginalnih porodih.

Pri 40 % porodov smo izolirali iste bakterijske vrste iz brisov ustne sluznice matere in iz vzorcev mekonijev mladičev, pri 45 % porodov pa iz brisov sluznice nožnice matere in iz vzorcev mekonijev mladičev. Glede najpogosteje zastopanih rodov se mekoniji mladičev podobno ujemajo tako z ustno sluznico kot tudi s sluznico nožnice psic. To se ujema z našo ugotovitvijo, da smo v podobnem odstotku izolirali iste bakterijske vrste v ustni sluznici in sluznici nožnice ter v mekoniju mladičev.

Zaradi sterilnega načina vzorčenja takoj po porodu menimo, da je v primerih, ko smo izolirali iste bakterijske vrste tako pri materi kot pri mladičih, prišlo do prenosa teh bakterij z matere na mladiče že v času brejosti, kar je v nasprotju z ugotovitvami nekaterih raziskav pri ljudeh, ki izpostavljajo, da je črevesje novorojenca sterilno, med porodom in po njem pa ga naselijo različne bakterije, in sicer odvisno od izpostavitve okolju (Perez-Muñoz in sod., 2017). Pri 16,6 % urgentnih carskih rezov je prišlo do prenosa bakterij iz ustne sluznice matere v mekonij mladičev, prenosa iz sluznice nožnice matere v mekonij pa nismo ugotovili. Pri 55,5 % mladičev, ki so bili rojeni z elektivnim carskim rezom, je prišlo do prenosa bakterij iz sluznice nožnice matere v mekonij mladičev, pri 33,3 % pa iz ustne sluznice matere v mekonij. Pri vaginalnih porodih smo podobno kot pri elektivnih carskih rezih ugotovili, da je bil pogostejši prenos bakterij iz sluznice nožnice matere v mekonij mladičev (pri 80 % porodov), prenos iz ustne sluznice matere v mekonij pa manj (pri 60 % porodov).

Pri ljudeh so ugotovili, da je mikrobiota v mekoniju kljub podobnostim z mikrobioto posteljice in amnijske tekočine edinstvena po sestavi (Collado in sod., 2016). V večini raziskav so našli povezavo mikrobiote posteljice z mikrobioto ustne votline (Fardini in sod., 2010; Han in sod., 2006; Han in sod., 2010; Han in sod., 2009; Aagaard in sod., 2014), v nekaterih pa tudi povezavo z mikrobioto nožnice (Parnell in sod., 2017) in črevesja (Collado in sod., 2016).

Hipoteza 3: Mikrobiota mekonija vpliva na preživetje pasjih mladičev v prvih 60 dneh po porodu

Pri večini mladičev v prvih tednih življenja ni bilo nobenih hujših zdravstvenih težav. Težave so se pojavile pri prvem, drugem in petem elektivnem carskem rezu, kjer so imeli vsi mladiči (14) v leglu določene zdravstvene probleme. Zabeležili smo samo blage driske in probleme s kožo ter takoj začeli z zdravljenjem pri mladičih, kjer je bilo to potrebno. Statistično značilnih razlik ni bilo, ker je bil vzorec premajhen. Kljub temu pa smo opazili, da so zbolevali le mladiči, rojeni z elektivnim carskim rezom, vendar to ni vplivalo na njihovo preživetje.

Statistično značilne razlike v relativnem prirastu pa so se pojavile med mladiči, ki so se skotili z vaginalnim porodom in s carskim rezom, predvsem drugi, tretji in četrti dan. Mladiči z vaginalnim porodom so priraščali bolje. Prirast smo spremljali do osmega tedna starosti, vendar kasneje ni bilo več mogoče opaziti statistično značilnih razlik v relativnem prirastu.

Prav tako nismo ugotovili nobenih statistično značilnih razlik v relativnem prirastu med novorojenimi samci in samicami.

Pomembno pa je, da smo našli povezavo med relativnim prirastom pri mladičih s sterilnim mekonijem v primerjavi z mladiči, ki so ob rojstvu imeli svojo lastno mikrobioto. Mladiči, pri katerih v mekoniju nismo našli bakterij, so priraščali počasneje kot mladiči, pri katerih smo iz mekonija izolirali posamezne bakterijske kolonije. Prvi in drugi dan sicer nismo zaznali statistično značilnih razlik, so se pa pojavile tretji in četrti dan, tudi peti in šesti dan, vendar so bile razlike v prirastu takrat na meji statistične značilnosti. Po tem obdobju ni bilo več statističnih razlik v relativnem prirastu.

Statistično značilna je bila tudi razlika v prirastu drugi dan pri mladičih, ki so imeli posamezne bakterije v posteljici, v primerjavi s tistimi, ki so se skotili brez prisotnosti bakterij. Po drugem dnevu ni bilo več statistično značilnih razlik. Čeprav prvi dan nismo zaznali statistično značilne razlike, je iz kliničnega vidika pomembno to, da so mladiči, pri katerih iz posteljice nismo izolirali bakterij, prvi dan izgubili na teži v povprečju 1,9 % telesne mase; mladiči, pri katerih smo izolirali posamezne bakterijske kolonije, pa so prvi dan v povprečju pridobili na telesni masi za 0,06 %.

V literaturi iz humane medicine smo našli podatke o vplivu določenih bakterij na porodno težo in obseg glave, nismo pa našli podatkov o morebitnem vplivu mikrobiote mekonija na prirast novorojencev v neonatalnem obdobju (Robertson in sod., 2019).

6 SKLEPI

1. Glede na bakterijske rodove, ki smo jih izolirali iz 86,5 % mekonijev in 57,0 % posteljic, lahko sklepamo, da se novorojeni pasji mladiči skotijo z lastno mikrobioto ne glede na tip poroda, kar potrjuje prvo hipotezo. Odstotek mladičev, pri katerih smo izolirali enake bakterijske vrste iz brisov ustne sluznice in/ali sluznice nožnice ter vzorcev mekonijev in/ali posteljic, je pri vaginalnih porodih višji.
2. Pri 40,0 % porodov smo izolirali iste bakterijske vrste iz brisov ustne sluznice matere in iz vzorcev mekonijev mladičev, pri 45,0 % porodov pa iz brisov sluznice nožnice matere in iz vzorcev mekonijev mladičev. Tudi glede zastopanosti bakterijskih rodov je mikrobiota mekonija podobna mikrobioti ustne sluznice in sluznice nožnice psic. Na podlagi pridobljenih rezultatov zato sklepamo, da je mikrobiota mekonija povezana z oralno in vaginalno mikrobioto matere, kar potrjuje drugo hipotezo.
3. Mikrobiota mekonija ne vpliva na preživetje mladičev v prvih šestdesetih dneh po rojstvu, kar zanika našo tretjo hipotezo. Lahko pa trdimo, da mikrobiota mladičev vpliva na njihov relativni prirast v prvih dneh življenja. Mladiči, ki so se skotili z mekonijem z bakterijsko mikrobioto, so drugi in tretji dan statistično značilno bolje priraščali kot tisti, ki so se rodili z mekonijem brez bakterijske mikrobiote. Razlika je ohranjena tudi četrti in peti dan, vendar je na meji statistične značilnosti.

7 ZAHVALE

Zahvaljujeva se najboljšima mentoricama izr. prof. dr. Ireni Zdovc in asist. dr. Maji Zakošek Pipan za pomoč, potrežljivost, vzpodbudo, pohvalne in druge prijazne besede. Vse to nama je pomagalo, da sva ob natrpanem urniku zmogli vse, kar sva si zadali. Izr. prof. dr. Zdovc, bili ste nama kot druga mama, ki ste poleg znanstvenoraziskovalnih izkušenj z nama delili tudi življenjske modrosti in nama tako pomagali pri osebni rasti. Asist. dr. Zakošek Pipan, hvala, ker ste nama bili na voljo, ko sva vas najbolj potrebovali, in da ste prevzeli pobudo in naju vodili pri delu. Hvala tudi za vse zabavne in prijetne trenutke ter zdrave prigrizke iz vaše pisarne.

Hvala doc. dr. Tanji Plavec, brez katere raziskovalnega dela ne bi mogli izvesti. Zaslužni ste za veliko rešenih pasjih življenj.

Posebej bi se radi zahvalili Olgi Kosar in Maji Lepen za pomoč in potrežljivost pri laboratorijski diagnostiki in pripravi materialov za teren. Z veseljem sva se družili in delali z vami v mikrobiološkem laboratoriju.

Hvala vsem sodelavcem Klinike za male živali Veterinarske fakultete, ki ste nam na kakršen koli način pomagali pri izvedbi našega raziskovalnega dela. Posebej se zahvaljujemo asist. dr. Barbari Lukanc za odlično vodene anestezijske protokole. Hkrati se opravičujemo, da ste videli samo zadnjih 30 sekund finalne tekme Eurobasketa.

Zahvaljujeva se tudi sošolkama Aleksandri Slapšak in Sari Raspom za pomoč pri oživljanju mladičev, njihovem spremjanju in zbiranju vzorcev ter za vse fotografije, ki sta jih naredili z nainima telefonom.

Hvala dr. Tini Roškar, dr. vet. med., in Petri Fink, dr. vet. med., ter celotni ekipi klinike za male živali Moj Vet za strpnost pri zbiranju in obdelovanju vzorcev. Devet posteljic naenkrat nikakor ni mačji kašelj.

Zahvaljujeva se vodstvu Programske skupine P4-0092 in Raziskovalnega projekta CRP-V4-1606 za finančno podporo in zaupanje.

Za pregled literature se zahvaljujeva mag. Brigit Grec Smole, dr. vet. med. in Stanki Ujc, dr. vet. med.

Največja zahvala pa gre lastnikom živali in njihovim psičkam. S sodelovanjem ste pomagali k novim spoznanjem v veterinarski medicini. Nekatere vaše mamice in mladičke, ki danes to več niso, še vedno spremjava na družabnih omrežjih.

Anjina zahvala: Zahvalila bi se staršem in sestri, ki so me podpirali in mi v času raziskovalnega dela pomagali, ter Roku za pomoč pri delu s programom Excel in pri obdelavi podatkov ter seveda za podporo in spodbujanje pri pisanku. Največja zahvala pa gre tebi, Leonida, s tabo sta bili ti dve leti in pol veliko lepši in zelo sem vesela, da sva sodelovali pri Prešernovi nalogi.

Leonidina zahvala: Zahvaljujem se mami in očetu, ki sta me spodbujala in podpirala pri pisanku raziskovalnega dela, bratu, ki je z mirnimi živci pomagal pri oblikovanju naloge, in Aljažu, ki je stolično prenašal moje živčne dneve. Hvala, Anja, tudi tebi, za vse, kar nama je uspelo narediti v zadnjih dveh letih in pol.

8 LITERATURA

1. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med* 2014; 6(237).
2. Aagaard K, Riehle K, Ma J, et al. A metagenomic approach to characterization of the vaginal microbiome signature in pregnancy. *PLoS One* 2012; 7(6): e1–15.
doi:10.1371/journal.pone.0036466 (13. 6. 2019)
3. Albaret A, Mila H, Grellet A, Chastant-Maillard S. Pattern of immunoglobulin G concentration in canine colostrum and milk during the lactation. In: Proceeding of the 8th International symposium on canine and feline reproduction. Pariz, 2016: 93.
4. Apgar V, James LS. Further observations on the newborn scoring system. *Am J Dis Child* 1962; 104: 419–28.
5. Apgar V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Curr Res Anesth Analg* 1953; 32(4): 260–7.
6. Aralla M, Groppetti D, Caldarini L, Cremonesi F, Arrighi S. Morphological evaluation of the placenta and fetal membranes during canine pregnancy from early implantation to term. *Res Vet Sci* 2013; 95: 15–22.
7. Ardissoni AN, de la Cruz DM, Davis-Richardson AG, et al. Meconium microbiome analysis identifies bacteria correlated with premature birth, *PLoS One* 2014; 9(3): e90784.
(8. str)
doi:10.1371/journal.pone.0090784 (5. 5. 2019)
8. Aurich C, Ellinger I. Propagation: mammalian reproduction. In: Jensen-Jarolim E, ed. Comparative medicine. Vienna: Springer, 2014: 195–217.
9. Avella MA, Baibakov B, Dean J. A single domain of the ZP2 zona pellucida protein mediates gamete recognition in mice and humans. *J Cell Biol* 2014; 205: 801–9.
10. Baba E, Hata H, Fukata T, Arakawa A. Vaginal and uterine microflora of adult dogs. *Am J Vet Res* 1983; 44(4): 606–9.
11. Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, et al. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host Microbe* 2015; 17(5): 690–703.
12. Bagnoli F, Mori A, Fommei C, Coriolani G, Badii S, Tomasini B. ACTH and cortisol cord plasma concentrations in preterm and term infants. *J Perinatol* 2013; 33(7): 520–4.

13. Batista M, Moreno C, Vilar J, et al. Neonatal viability evaluation by Apgar score in puppies delivered by cesarean section in two brachycephalic breeds (English and French bulldog). *Anim Reprod Sci* 2014; 146(3/4): 218–26.
14. Bearfield C, Davenport ES, Sivapathasundaram V, Allaker RP. Possible association between amniotic fluid micro-organism infection and microflora in the mouth. *BJOG* 2002; 109: 527–33.
15. Blendinger K. Physiology and pathology of the estrous cycle of the bitch. In: Proceedings of the SCIVAC Congress. Rimini, 2007: 73–7.
16. Bouchard G, Plata-Madrid H, Youngquist R, et al. Absorption of an alternate source of immunoglobulin in pups. *Am J Vet Res* 1992; 53: 230–3.
17. Bowden RST, Hogdman SFT, Hime JM. Neonatal mortality in dogs. In: Proceedings of the 17th World Veterinary Congress. Hannover, 1963: 1009–13.
18. Burton EN, Cohn LA, Reinero CN, Rindt H, Moore SG, Ericsson AC. Characterization of the urinary microbiome in healthy dogs. *PLoS One* 2017; 12(5): e0177783. (16. str.) doi:10.1371/journal.pone.0177783 (21. 5. 2019)
19. Carter AM, Enders AC. Placentation in mammals: definitive placenta, yolk sac, and paraplacenta. *Theriogenology* 2016; 86: 278–87.
20. Chastant-Maillard S, Aggouni C, Albaret A, Fournier A, Mila H. Canine and feline colostrum. *Reprod Dom Anim* 2017; 52(Suppl. 2): 148–52.
21. Chastant-Maillard S, Freyburger L, Marcheteau E, et al. Timing of the intestinal barrier closure in puppies. *Reprod Dom Anim* 2012; 47: 190–3.
22. Chu DM, Seferovic M, Pace RM, Aagaard KM. The microbiome in preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2018; 52: 103–13.
23. Claus MA, Levy JK, MacDonald K, Tucker SJ, Crawford PC. Immunoglobulin concentrations in feline colostrum and milk, and the requirement of colostrum for passive transfer of immunity to neonatal kittens. *J Feline Med Surg* 2006; 8: 184–91.
24. Collado MC, Rautava S, Aakko J, Isolauri E, Salminen S. Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Sci Rep* 2016; 6: 23129. (13 str.) doi: 10.1038/srep23129 (16. 6. 2019)

25. Concannon PW. Canine pregnancy: predicting parturition and timing events of gestation. In: England E, Verstegen J, eds. Recent advances in small animal reproduction. Ithaca: IVIS, 2000.
26. Concannon PW. Physiology and clinical parameters of pregnancy in dogs. In: Proceedings of 27. World congress of world small animal veterinary association. Ithaca, 2002.
27. Concannon, PW. Reproductive cycles of the domestic bitch. Anim Reprod Sci 2011; 124: 200–10.
28. Darvelid AW, Forsberg CL. Dystocia in the bitch: a retrospective study of 182 cases. J Small Anim Pract 1994; 35: 402–7.
29. Davidson AP. Approaches to reducing neonatal mortality in dogs. In: Concannon PW, England G, Verstegen J, Forsberg CL, eds. Recent advances in small animal reproduction. Ithaca. IVIS, 2003. (8 str.)
30. Davidson AP. Pregnancy and parturition. In: Klein BG, ed. Cunningham's textbook of veterinary physiology. 5th ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2013: 434–6.
31. Deng P, Swanson KS. Gut microbiota of humans, dogs and cats: current knowledge and future opportunities and challenges. Br J Nutr 2015; 113(S1): S6–S17.
32. Doebeli A, Michel E, Bettschart R, Hartnack S, Reichler IM. Apgar score after induction of anesthesia for canine cesarean section with alfaxalone versus propofol. Theriogenology 2013; 80(8): 850–4.
33. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. Proc Natl Acad Sci U S A 2010; 107(26): 11971–5.
34. Ericsson AC, Personett AR, Grobman ME, Rindt H, Reinero CR. Composition and predicted metabolic capacity of upper and lower airway microbiota of healthy dogs in relation to the fecal microbiota. PLoS One 2016; 11(5): e0154646. (22. str.)
doi:10.1371/journal.pone.0154646 (18. 5. 2019)
35. Fardini Y, Chung P, Dumm R, Joshi N, Han YW. Transmission of diverse oral bacteria to murine placenta: evidence for the oral microbiome as a potential source of intrauterine infection. Infect Immun 2010; 78(4): 1789–96.
36. Fardini Y, Wang X, Témoin S, et al. *Fusobacterium nucleatum* adhesin FadA binds vascular endothelial cadherin and alters endothelial integrity. Mol Microbiol 2011; 82(6): 1468–80.

37. Feldman EC, Nelson RW. Canine and feline endocrinology and reproduction. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996: 572–91.
38. Finster M, Wood M. The Apgar score has survived the test of time. Anesthesiology 2005; 102: 855–7.
39. Fisher EW. Neonatal diseases of dogs and cats. Br Vet J 1982; 138: 277–84.
40. Forsberg CL. Dystocia in the bitch. In: Bojrab MJ, Monnet E, eds. Mechanisms of disease in small animal surgery. 3rd ed. Jackson: Teton NewMedia, 2010. (10 str.)
41. Freitas AC, Chaban B, Bocking A, et al. The vaginal microbiome of pregnant women is less rich and diverse, with lower prevalence of *Mollicutes*, compared to non-pregnant women. Sci Rep 2017; 7(1): 9212.
42. Fujiwara N, Tsuruda K, Iwamoto Y, et al. Significant increase of oral bacteria in the early pregnancy period in Japanese women. J Investig Clin Dent 2017; 8(1): e12189. (8 str.)
doi: 10.1111/jicd.12189 (15. 4. 2019)
43. Funkhouser LJ, Bordenstein SR. Mom knows best: the universality of maternal microbial transmission. PLoS Biol 2013; 11: e1001631. (9 str.)
doi.org/10.1371/journal.pbio.1001631 (16. 5. 2018)
44. Furukawa S, Kuroda Y, Sugiyama A. A comparison of the histological structure of the placenta in experimental animals. J Toxicol Pathol 2014; 27: 11–8.
45. Garcia-Mazcorro JF, Dowd SE, Poulsen J, Steiner JM, Suchodolski JS. Abundance and short-term temporal variability of fecal microbiota in healthy dogs. Microbiologyopen 2012; 1(3): 340–7.
46. Gill MA. Perinatal and late neonatal mortality in the dog. Sydney: University of Sydney; 2001. Doktorska disertacija.
47. Gilson SD. Caesarean section. In: Slatter DH, ed. Textbook of small animal surgery. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 2003: 1517–20.
48. Gosalbes MJ, Llop S, Vallès Y, Moya A, Ballester F, Francino MP. Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants. Clin Exp Immunol 2013; 43(2): 198–211.
49. Graubner FR, Reichler IM, Rahman NA, et al. Decidualization of the canine uterus: from early until late gestation in vivo morphological observations, and functional

- characterization of immortalized canine uterine stromal cell lines. *Reprod Dom Anim* 2017; 52(Suppl. 2): 137–47.
50. Hafez S. Comparative placental anatomy: divergent structures serving a common purpose. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2017; 145: 1–28.
51. Hagman R. Pyometra in small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2018; 48(4): 639–61.
52. Han YW, Fardini Y, Chen C, et al. Term stillbirth caused by oral *Fusobacterium nucleatum*. *Obstet Gynecol* 2010; 115(2 Pt 2): 442–5.
53. Han YW, Ikegami A, Bissada NF, Herbst M, Redline RW, Ashmead GG. Transmission of an uncultivated *Bergeyella* strain from the oral cavity to amniotic fluid in a case of preterm birth. *J Clin Microbiol* 2006; 44(4): 1475–83.
54. Han YW, Shen T, Chung P, Buhimschi IA, Buhimschi CS. Uncultivated bacteria as etiologic agents of intra-amniotic inflammation leading to preterm birth. *J Clin Microbiol* 2009; 47(1): 38–47.
55. Hansen R, Scott KP, Khan S, et al. First-pass meconium samples from healthy term vaginally-delivered neonates: an analysis of the microbiota. *PLoS One* 2015; 10(7): e0133320. (10 str.)
doi:10.1371/journal.pone.0133320 (15. 5. 2018)
56. Harrington DJ, Redman CW, Moulden M, Greenwood CE. The long-term outcome in surviving infants with Apgar zero at 10 min: a systemic review of the literature and hospital-based cohort. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196: 463–5.
57. Heird WC, Schwarz SM, Hansen IH. Colostrum-induced enteric mucosal growth in beagle puppies. *Pediatr Res* 1984; 18: 512–5.
58. Hooda S, Minamoto Y, Suchodolski JS, Swanson KS. Current state of knowledge: the canine gastrointestinal microbiome. *Anim Health Res Rev* 2012; 13(1): 78–88.
59. Hu J, Nomura Y, Bashir A, et al. Diversified microbiota of meconium is affected by maternal diabetes status. *PLoS One* 2013; 8(11): e78257. (10 str.)
doi:10.1371/journal.pone.0078257 (5. junij 2019)
60. Hutchins RG, Vaden SL, Jacob ME, et al. Vaginal microbiota of spayed dogs with or without recurrent urinary tract infections. *J Vet Intern Med* 2014; 28(2): 300–4.
61. Indrebø A, Trangerud C, Moe L. Canine neonatal mortality in four large breeds. *Acta Vet Scand* 2007; 49(Suppl 1): S2. (5 str.)

- doi.org/10.1186/1751-0147-49-S1-S2 (12. 3. 2019)
62. Jiménez E, Fernandez L, Marin ML, Martin R, Odriozola JM, et al. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. *Curr Microbiol* 2005; 51: 270–4.
63. Jiménez E, Marín ML, Martín R, et al. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Res Microbiol* 2008; 159: 187–93.
64. Kirk CA. New concepts in pediatric nutrition. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2001; 31(2): 369–92.
65. Korbelik J, Singh A, Rousseau J, Weese JS. Characterization of the otic bacterial microbiota in dogs with otitis externa compared to healthy individuals. *Vet Dermatol* 2019; 30(3): 228–e70. (10 str.)
doi.org/10.1111/vde.12734 (5. 5. 2019)
66. Koren O, Goodrich JK, Cullender TC, et al. Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell* 2012; 150(3): 470–80.
67. Kovalovszki L, Villanyi Z, Pataki I, Veszelovvsky I, Nagy ZB. Isolation of aerobic bacteria from the placenta. *Acta Paediatr Acad Sci Hung* 1982; 23: 357–60.
68. Kowalski JJ. The microbial environment of the ear canal in health and disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1988; 18(4): 743–54.
69. Lauder AP, Roche AM, Sherrill-Mix S, et al. Comparison of placenta samples with contamination controls does not provide evidence for a distinct placenta microbiota. *Microbiome* 2016; 4(1): 29 (11 str.).
doi:10.1186/s40168-016-0172-3 (22. 4. 2019)
70. Lawn JE, Cousens S, Zupan J. 4 million neonatal deaths: When? Where? Why? *Lancet* 2005; 365: 891–900.
71. Leiby JS, McCormick K, Sherrill-Mix S, et al. Lack of detection of a human placenta microbiome in samples from preterm and term deliveries. *Microbiome* 2018; 6(1): 196. (11 str.)
doi.org/10.1186/s40168-018-0575-4 (24. 5. 2019)
72. Leis ML, Costa MO. Initial description of the core ocular surface microbiome in dogs: bacterial community diversity and composition in a defined canine population. *Vet Ophthalmol* 2019; 22: 337–44.

73. Leon LJ, Doyle R, Diez-Benavente E, et al. Enrichment of clinically relevant organisms in spontaneous preterm-delivered placentas and reagent contamination across all clinical groups in a large pregnancy cohort in the United Kingdom. *Appl Environ Microbiol* 2018; 84(14): e00483-18. (13 str.)
doi:10.1128/AEM.00483-18 (18. 6. 2019)
74. Liu X. Microbiome. *Yale J Biol Med* 2016; 89(3): 275–6.
75. Lopate C. Estimation of gestational age and assessment of canine fetal maturation using radiology and ultrasonography: a review. *Theriogenology* 2008; 70: 397–402.
76. Lopate C. Reproductive physiology of canine pregnancy and parturition and conditions of the periparturient period. In: Lopate C, ed. *Management of pregnant and neonatal dogs, cats, and exotic pets*. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2012: 25–41.
77. Lúcio CF, Silva LC, Rodrigues JA, Veiga GA, Vannucchi CI. Acid-base changes in canine neonates following normal birth or dystocia. *Reprod Domest Anim* 2009; 44(Suppl 2): 208–10.
78. Lyman CC, Holyoak GR, Meinkoth K, Wieneke X, Chillemi KA, DeSilva U. Canine endometrial and vaginal microbiomes reveal distinct and complex ecosystems. *PLoS One* 2019; 14(1): e0210157. (17 str.)
doi:10.1371/journal.pone.0210157 (4. 4. 2019)
79. McDonald JE, Larsen N, Pennington A, et al. Characterising the canine oral microbiome by direct sequencing of reverse-transcribed rRNA molecules. *PLoS One* 2016; 11(6): e0157046. (17 str.)
doi:10.1371/journal.pone.0157046 (2. 5. 2019)
80. Mellert S. Vorkommen von *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus canis* in hundezuchten in Berlin und umgebung. Berlin: Freie Universität Berlin, Institut für Tier - und Umwelthygiene des Fachbereichs Veterinärmedizin, 2004, Doktorska disertacija.
81. Mila H, Feugier A, Grellet A, et al. Immunoglobulin G concentration in canine colostrum: evaluation and variability. *J Reprod Immunol* 2015b; 112: 24–8.
82. Mila H, Feugier A, Grellet A, et al. Inadequate passive immune transfer in puppies: definition, risk factors and prevention in a large multi-breed kennel. *Prev Vet Med* 2014; 116: 209–13.

83. Mila H, Grellet A, Delebarre M, et al. Monitoring of the newborn dog and prediction of neonatal mortality. *Prev Vet Med* 2017; 143: 11–20.
84. Mila H, Grellet A, Feugier A, Chastant-Maillard S. Differential impact of birth weight and early growth rate on neonatal mortality in puppies. *J Anim Sci* 2015a; 93(9): 4436–42.
85. Mirmonsef P, Hotton AL, Gilbert D, et al. Free glycogen in vaginal fluids is associated with *Lactobacillus* colonization and low vaginal pH. *PLoS One* 2014; 9(7): 1–11.
doi:10.1371/journal.pone.0102467 (14. 5. 2019)
86. Moon PF, Erb HN, Ludders JW, Gleed RD, Pascoe PJ. Perioperative risk factors for puppies delivered by cesarean section in the United States and Canada. *J Am Anim Hosp Assoc* 2000; 36(4): 359–68.
87. Mosier JE. Canine pediatrics - the neonate. In: Proceedings of the 48th AAHA Meeting. South Bend, 1981: 339–47.
88. Münnich A, Lübke-Becker A. *Escherichia coli* infections in neonatal puppies: microbiological and clinical investigations. *Theriogenology* 2004; 65: 562–75.
89. Münnich A. The pathological newborn in small animals: the neonate is not a small adult. *Vet Res Commun* 2008; 32(Suppl 1): S81–5.
90. Ngo J, Taminiau B, Fall PA, Daube G, Fontaine J. Ear canal microbiota – a comparison between healthy dogs and atopic dogs without clinical signs of otitis externa. *Vet Dermatol* 2018; 29: 425-e140. (8 strani)
doi:10.1111/vde.12674 (12. 4. 2019)
91. Noakes DE. Development of the conceptus. In: Parkinson TJ, England GCW, eds. Veterinary reproduction and obstetrics. 9th ed. Edinburgh; New York: Saunders, 2009b: 61–75.
92. Noakes DE. Endogenous and exogenous control of ovarian cyclicity. In: Parkinson TJ, England GCW, eds. Veterinary reproduction and obstetrics. 9th ed. Edinburgh; New York: Saunders, 2009a: 3–58.
93. Noakes DE. General consideration. In: Parkinson TJ, England GCW, eds. Veterinary reproduction and obstetrics. 9th ed. Edinburgh; New York: Saunders, 2009c: 209–22.
94. Nuriel-Ohayon M, Neuman H, Koren O. Microbial changes during pregnancy, birth, and infancy. *Front Microbiol* 2016; 7: 1031.
doi: 10.3389/fmicb.2016.01031 (4. 6. 2019)

95. Oh C, Lee K, Cheong Y, et al. Comparison of the oral microbiomes of canines and their owners using next-generation sequencing. *PLoS One* 2015; 10(7): e0131468. (15 str.)
doi:10.1371/journal.pone.0131468 (22. 6. 2019)
96. Parnell LA, Briggs CM, Cao B, Delannoy-Bruno O, Schrieffer AE, Mysorekar IU. Microbial communities in placentas from term normal pregnancy exhibit spatially variable profiles. *Sci Rep* 2017; 7(1): 11200. (11 str.)
doi:10.1038/s41598-017-11514-4 (6. 6. 2019)
97. Pelzer E, Gomez-Arango LF, Barrett HL, Nitert MD. Review: maternal health and the placental microbiome. *Placenta* 2017; 54: 30–7.
98. Perez-Muñoz ME, Arrieta MC, Ramer-Tait AE, Walter J. A critical assessment of the "sterile womb" and "in utero colonization" hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome* 2017; 5(1): 48. (19 str.)
doi:10.1186/s40168-017-0268-4 (5. 3. 2019)
99. Smith FO. Prenatal care of the bitch and queen. In: Peterson ME, Kutzler MA, eds. *Small animal pediatrics: the first 12 months of life*. St. Louis, Elsevier, 2011: 1–10.
100. Kutzler MA. The reproductive tract. In: Peterson ME, Kutzler MA, eds. *Small animal pediatrics: the first 12 months of life*. St. Louis, Elsevier, 2011: 405–17.
101. Poffenbarger EM, Ralston SL, Olson PM, Chandler ML. Canine neonatology. Part 2: disorders of the neonate. *Comp Cont Educ Pract Vet* 1990; 13: 25–37.
102. Rautava S, Collado MC, Salminen S, Isolauri E. Probiotics modulate host-microbe interaction in the placenta and fetal gut: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neonatology* 2012a; 102: 178–84.
103. Rautava S, Kainonen E, Salminen S, Isolauri E. Maternal probiotic supplementation during pregnancy and breast-feeding reduces the risk of eczema in the infant. *J Allergy Clin Immunol* 2012b; 130(6): 1355–60.
104. Reynaud K, Fontbonne A, Marseloo N, et al. In vivo canine oocyte maturation fertilization and early embryogenesis: a review. *Theriogenology* 2006; 66: 1685–93.
105. Robertson RC, Manges AR, Finlay BB, Prendergast AJ. The human microbiome and child growth – first 1000 days and beyond. *Trends Microbiol* 2019; 27(2): 131–47.
106. Rodrigues Hoffmann A, Patterson AP, Diesel A, et al. The skin microbiome in healthy and allergic dogs. *PLoS One* 2014; 9(1): e83197. (12 str.)
doi:10.1371/journal.pone.003197 (18. 5. 2019)

107. Romagnoli S, de Souza FF, Rota A, Vannozzi I. Prolonged interval between parturition of normal live pups in a bitch. *J Small Anim Pract* 2004; 45(5): 249–53.
108. Romero R, Hassan SS, Gajer P, et al. The vaginal microbiota of pregnant women who subsequently have spontaneous preterm labor and delivery and those with a normal delivery at term. *Microbiome* 2014; 2: 18. (15 str.)
doi:10.1186/2049-2618-2-18 (20. 3. 2019)
109. Schafer-Somi S, Bar-Schadler S, Aurich JE. Immunoglobulins in nasal secretions of dog puppies from birth to six weeks of age. *Res Vet Sci* 2005; 78:143–50.
110. Schatten H. Overview of fertilization. In: Constantinescu GM, ed. Comparative reproductive biology. Ames: Blackwell Publishing, 2007: 111–5.
111. Schultheiss PC, Jones RL, Kesel ML, Olson PN. Normal bacterial flora in canine and feline uteri. *J Vet Diagn Invest* 1999; 11(6): 560–2.
112. Scott JP. Critical periods in the development of social behaviour in puppies. *Psychosom Med* 1958; 1(10): 42–54.
113. Senger PL. Pathways to pregnancy and parturition. 2nd rev. ed. Pullman: Current Conceptions, Inc, 2003a: 284–303.
114. Senger PL. Pathways to pregnancy and parturition. 2nd rev. ed. Pullman, Washington: Current Conceptions, Inc, 2003b: 304–25.
115. Silva LC, Lúcio CF, Veiga GA, Rodrigues JA, Vannucchi CI. Neonatal clinical evaluation, blood gas and radiographic assessment after normal birth, vaginal dystocia or caesarean section in dogs. *Reprod Domest Anim* 2009; 44(2): 160–3.
116. Skolnick AA. Apgar quartet plays perinatologist's instruments. *JAMA* 1996; 276: 1939–40.
117. Steel JH, Malatos S, Kennea N, Edwards AD, Miles L, et al. Bacteria and inflammatory cells in fetal membranes do not always cause preterm labor. *Pediatr Res* 2005; 57: 404–11.
118. Stelwagen K, Carpenter E, Haigh B, Hodgkinson A, Wheeler TT. Immune components of bovine colostrum and milk. *J Anim Sci* 2009; 87: 3–9.
119. Stout MJ, Conlon B, Landeau M, et al. Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm gestations. *Am J Obstet Gynecol* 2013; 208: 226.e1-7. (14 str.)
doi:10.1016/j.ajog.2013.01.018. (24. 5. 2019)

120. Suchodolski JS. Intestinal microbiota of dogs and cats: a bigger world than we thought. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2011; 41(2): 261–72.
121. Suttiwe C, Ederveen THA, Broere F, et al. The bacterial and fungal microbiome of the skin of healthy dogs and dogs with atopic dermatitis and the impact of topical antimicrobial therapy, an exploratory study. *Vet Microbiol* 2019; 229: 90–9.
122. Swidsinski A, Verstraeten H, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Mendling W, Halwani Z. Presence of a polymicrobial endometrial biofilm in patients with bacterial vaginosis. *PLoS One* 2013; 8(1): 1–5. (5 str.)
doi:10.1371/journal.pone.0053997 (26. 5. 2019)
123. Taddei CR, Cortez RV, Mattar R, Torloni MR, Daher S. Microbiome in normal and pathological pregnancies: a literature overview. *Am J Reprod Immunol* 2018; 80(2): e12993. (9 str.)
doi:10.1111/aji.12993 (9. 5. 2019)
124. Taverne M, Noakes DE. Parturition and the care of parturient animals, including the newborn. In: Parkinson TJ, England GCW, eds. *Veterinary reproduction and obstetrics*. 9th ed. Edinburgh: Saunders, 2009: 154–93.
125. Taverne M, Noakes DE. Parturition and the care of parturient animals and the newborn. In: Parkinson TJ, England GCW, eds. *Veterinary reproduction and obstetrics*. 10th ed. Edinburh: Saunders, 2019: 115–47.
126. Titkova R, Fialkovicova M, Karasova M, Hajurka J. Puppy Apgar score after vaginal delivery and caesarean section. *Vet Med (Praha)* 2017; 62(9): 488–92.
127. Tønnessen R, Borge KS, Nødtvedt A, Indrebø A. Canine perinatal mortality: a cohort study of 224 breeds. *Theriogenology* 2012; 77(9): 1788–801.
128. Tress B, Dorn ES, Suchodolski JS, et al. Bacterial microbiome of the nose of healthy dogs and dogs with nasal disease. *PLoS One* 2017; 12(5): e0176736. (18 str.)
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176736> (18. maj 2019)
129. Vassalo FG, Simões CRB, Sudano MJ, et al. Topics in the routine assessment of newborn puppy viability. *Top Companion Anim Med* 2015; 30(1): 16–21.
130. Veronesi MC, Panzani S, Faustini M, Rota A. An Apgar scoring system for routine assessment of newborn puppy viability and short-term survival prognosis. *Theriogenology* 2009; 72(3): 401–7.

131. Veronesi MC. Assessment of canine neonatal viability-the Apgar score. *Reprod Domest Anim* 2016; 51(Suppl 1): 46–50.
132. Verstraelen H, Vilchez-Vargas R, Desimpel F, et al. Characterisation of the human uterine microbiome in non-pregnant women through deep sequencing of the V1-2 region of the 16S rRNA gene. *PeerJ* 2016; 4: e1602. (23 str.)
doi:10.7717/peerj.1602 (14. 6. 2019)
133. Wassenaar TM, Panigrahi P. Is a foetus developing in a sterile environment? *Lett Appl Microbiol* 2014; 59(6): 572–9.
134. Wydooghe E, Berghmans E, Rijsselaere T, Van Soom A. International breeder inquiry into the reproduction of the English bulldog. *Vlaams Diergen Tijds* 2013; 82 (1): 38–43.
135. Zakošek Pipan M, Plavec T. Kako pomagati v občutljivih trenutkih? – Carski rez. In: Zbornik referatov 31. Simpozija o aktualnih boleznih malih živalih. Portorož: Slovensko združenje veterinarjev za male živali, 2018: 55–8.
136. Zakošek Pipan M, Švara T, Zdovc I, et al. *Staphylococcus pseudintermedius* septicemia in puppies after elective cesarean section: confirmed transmission via dam's milk. *MC Vet Res* 2019; 15: 41.
137. Zheng J, Xiao X, Zhang Q, Mao L, Yu M, Xu J. The placental microbiome varies in association with low birth weight in full-term neonates. *Nutrients* 2015; 7(8): 6924–37.
138. Zhu L, Luo F, Hu W, et al. Bacterial communities in the womb during healthy pregnancy. *Front Microbiol* 2018; 9: 2163. (6 str.)
10.3389/fmicb.2018.02163 (15. 5. 2019)

9 PRILOGE

9.1 PRILOGA 1 – IZJAVA O SODELOVANJU V RAZISKAVI

IZJAVA O SODELOVANJU V RAZISKAVI VPLIV PORODA NA NOVOROJENE PSE



Vpliv poroda na novorojene kužke je zelo slabo raziskan. V tem obdobju pride do številnih fizioloških sprememb, ki so potrebne za življenje izven matere. Z namenom, da bolje spoznamo, kako različni tipi porodov (elektivni ali urgentni carski rez, vaginalni porod) vplivajo na novorojence in katera oblika porodov zanje predstavlja največji stres, bi vas prosili, da sodelujete v raziskavi. V ta namen bomo pri porodu odvzeli vzorce, ki bi jih sicer zavrgli.

Vsi vzorci, ki bi bili sicer ob porodu ali po njem zavženi, bodo odvzeti na način, ki ne povzroča bolečine vaši psički ali njenim mladičem. Odvzeli bomo amnijsko tekočino (tekočino, v kateri ležijo mladiči med brejestjo), del placente, mekonij, nekaj kapljic kolostruma in nekaj kapljic krvi iz popkovnice.

V primeru sodelovanja v raziskavi vam ponujamo nižjo ceno kirurškega posega oziroma brezplačno pomoč pri vaginalnem porodu. Od vas pričakujemo spremljanje zdravstvenega stanja mladičev in mame po porodu, tehtanje mladičev in sporočanje teh podatkov vodjema raziskave. Če dogovora ne boste spoštovali, vam bomo po preteklu dveh mesecev poslali račun z razliko do polne cene posega oziroma našega dela.

S sodelovanjem v raziskavi Vpliv poroda na novorojene pse pomagate bodočim mladičkom, raziskovalcem in veterinarjem, za kar smo vam zelo hvaležni.

Vodji raziskave:

asis. dr. Maja Zakošek Pipan, dr. vet. med., in doc. dr. Tanja Plavec, dr. vet. med.

Izjava

Podpisani/-a _____, stanujoč/-a _____,
izjavljam, da se strinjam s sodelovanjem moje psice (ime, starost, pasma)
_____ v raziskavi Vpliv poroda na novorojene pse, ki poteka
na Veterinarski fakulteti v Ljubljani.

Seznanjen/-a sem z vsebino raziskave in s tveganjem ob sodelovanju.

Rezultati raziskave me zanimajo: DA NE

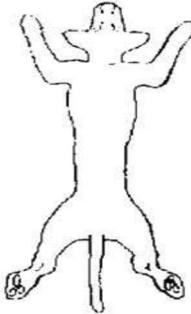
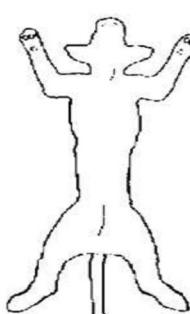
V Ljubljani, _____

Podpis lastnika/lastnice živali:

9.2 PRILOGA 2 – OBRAZEC ZA DOLOČANJE OCENE APGAR IN REFLEKSOV

Veterinarska fakulteta v Ljubljani

Rojstvo novorojenca - Poskus Novorojenčni

| | | | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|----------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| Ime psice: Številka: | Ime lastnika: | Pasma: | Številka poroda: |
| Teža psice: | Teža mladiča: g | Datum poroda: | Čas poroda: |
| Barvne značilnosti mladiča (izpolni, ko je mladič stabilen): Č=črna, R=rdečasta, B=bela, R=rjava, O=oranžna, Ru=rumen, Oz=oznaka | | Zaporedna številka mladiča: od | Spol: Ž M |
|  | | Temp: | Malformacije: DA NE Tip: |
|  | | Porod: Vaginalni bp Vaginalni pomoč Elektiven CR Urgeten CR | Posebnosti: Dolžina brejosti: |
| | | | Osemenitev: Pripravki AI |
| | | | Seme: Sveže Hlađeno |
| | | | Zamrznjeno |

Status ob porodu: Apgar ocena (Pregled v prvih petih minutah, preden je potrebna pomoč pri oživljjanju)

| Parameter | Točke | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| | 0 | 1 | 2 |
| Barva sluznic | Cianotične, blede sluznice | Rahlo cianotične | Rožnate |
| Srčni utrip | < 120 | 120-180 | > 180 |
| Dihanje | Ni prisoten | Šibek, brez ritma | > 15, ritmičen |
| Gibljivost | Niso gibljivi | Se malo premikajo | Aktivni |
| Lumbosakralna stimulacija | Ni odziva | Premikanje – brez vokalizacije | Premikanje in vokalizacija |
| Vitalnost novorojenca (od 10 možnih točk) (prištej točke vseh obkroženih področijh) | | | |
| Refleks | 0 | 1 | 2 |
| Sesalni refleks | | | |
| 'Rooting' refleks | | | |
| 'Righting' refleks | | | |
| Vitalnost novorojenca (od 6 možnih točk) (prištej točke vseh obkroženih področijh) | | | |

Potrebno oživljjanje? DA NE

Zdravljenje:

| Oblika zdravljenja | Doza | Čas | IV/SC/OR/IM |
|---------------------|----------------------------------------|-----|-------------|
| Nalokson | 0.25 mL/kg (0.4mg/mL) IV ali pod jezik | | |
| Dodajanje kisika | Zapiši % kisika in čas dajanja | | |
| Predihavanje | 15-30 vdihov / min | | |
| Akupunktura | Nasalni filtrum; 25g igla | | |
| Masaža srca | 120/min | | |
| Doxapram | 0.1 mL / mladiča IV ali pod jezikom | | |
| Glukoza v tekočinah | 10% 2-4 mL/kg IV ali IO | | |

ČAS ob končanem oživljjanju _____ Mrtev Živ

Apgar ocena (Pregled po 15 minutah)

| Parameter | Točke | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| | 0 | 1 | 2 |
| Barva sluznic | Cianotične, blede sluznice | Rahlo cianotične | Rožnate |
| Srčni utrip | < 120 | 120-180 | > 180 |
| Dihanje | Ni prisoten | Šibek, brez ritma | > 15, ritmičen |
| Gibljivost | Niso gibljivi | Se malo premikajo | Aktivni |
| Lumbosakralna stimulacija | Ni odziva | Premikanje – brez vokalizacije | Premikanje in vokalizacija |
| Vitalnost novorojenca (od 10 možnih točk) (prištej točke vseh obkroženih področijh) | | | |
| Refleks | 0 | 1 | 2 |
| Sesalni refleks | | | |
| 'Rooting' refleks | | | |
| 'Righting' refleks | | | |
| Vitalnost novorojenca (od 6 možnih točk) (prištej točke vseh obkroženih področijh) | | | |

Apgar ocena (Pregled po 1 uri)

| Parameter | Točke | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| | 0 | 1 | 2 |
| Barva sluznic | Cianotične, blede sluznice | Rahlo cianotične | Rožnate |
| Srčni utrip | < 120 | 120-180 | > 180 |
| Dihanje | Ni prisoten | Šibek, brez ritma | > 15, ritmičen |
| Gibljivost | Niso gibljivi | Se malo premikajo | Aktivni |
| Lumbosakralna stimulacija | Ni odziva | Premikanje – brez vokalizacije | Premikanje in vokalizacija |
| Vitalnost novorojenca (od 10 možnih točk) (prištej točke vseh obkroženih področijh) | | | |
| Refleks | 0 | 1 | 2 |
| Sesalni refleks | | | |
| 'Rooting' refleks | | | |
| 'Righting' refleks | | | |
| Vitalnost novorojenca (od 6 možnih točk) (prištej točke vseh obkroženih področijh) | | | |

Kolostrum – čas po porodu:

Spremljanje mladičev do odstavitev:

- teža po porodu
- teža 1 uro po porodu
- teža po kolostrumu
- vsakodnevno premikanje teže do 1 tedna po porodu
- teža pri 14 dneh
- teža po 1 mesecu
- teža pri odstavitvi

Podpis: _____

9.3 PRILOGA 3 – OSNOVNE TABLE, V KATERIH SO BAKTERIJE, KI SMO JIH IZOLIRALI PRI POSAMEZNIH PORODIH

Tabela v prilogi 1: Bakterije, ki smo jih izolirali pri 1. vaginalnem porodu

Table in the annex 1: Bacteria that we isolated from the 1st vaginal birth

| 1. JACK RUSSEL TERIER | PSICA | | | MLADIČI | |
|-----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS SLUZNICE NOŽNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | NA | NA | 1 | <i>S. arlettae</i> <i>S. oralis</i> <i>P. multocida</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>P. dagmatis</i> <i>C. acnes</i> | NA |
| PO PORODU | <i>C. acnes</i> 3 NK | <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. epidermidis</i> <i>E. faecalis</i> <i>H. haemoglobinophilus</i> | 2 | <i>S. epidermidis</i> <i>S. oralis</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>P. dagmatis</i> <i>C. acnes</i> | <i>S. epidermidis</i> <i>C. acnes</i> |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | <i>P. multocida</i> <i>B. zoohelcum</i> 1 NK | NA |
| PO PORODU | <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. mitis</i> <i>S. oralis</i> <i>Streptococcus sp.</i> <i>R. dentocariosa</i> <i>C. acnes</i> | NA | 4 | <i>B. zoohelcum</i> <i>C. acnes</i> 1 NK | NA |

Legenda: NK = nedeterminirana kolonija, S = sterilno, NA = ni podatka (ang: not available)

Tabela v prilogi 2: Bakterije, ki smo jih izolirali pri drugem vaginalnem porodu

Table in the annex 2: Bacteria that we isolated from the 2nd vaginal birth

| 2. PRITLIKAVI ŠNAVČER | PSICA | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS SLUZNICE NOŽNICE | MLADIČI MEKONIJ | POSTELJICA | |
|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| | | | | | | |
| PRED PORODOM | <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. hyovaginalis</i> <i>S. dysgalactiae ssp equisimilis</i> <i>P. canis</i> <i>N. animaloris</i> <i>E. tenue</i> <i>A. canis</i> 4 NK | <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. pyogenes</i> <i>M. lylae</i> <i>E. tenue</i> <i>Haemophilus sp.</i> 2 NK | 1 | <i>S. pseudintermedius</i> <i>Streptococcus sp.</i> <i>M. caseolyticus</i> <i>P. stomatis</i> 4 NK | NA | |
| PO PORODU | <i>Streptococcus sp.</i> <i>N. weaveri</i> <i>E. coli</i> <i>H. haemoglobinophilus</i> 1 NK | <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. pluranimalium</i> <i>Streptococcus sp.</i> 1 NK | 2 | <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. mitis</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>Kocuria sp.</i> <i>Lactobacillus sp.</i> 2 NK | NA | |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | <i>S. pseudintermedius</i> <i>Corynebacterium sp.</i> <i>Staphylococcus sp.</i> 2 NK | NA | |
| PO PORODU | <i>S. pseudintermedius</i> <i>Macrococcus sp.</i> <i>Kocuria sp.</i> <i>H. haemoglobinophilus</i> 1 NK | <i>S. pseudintermedius</i> | 4 | <i>S. pseudintermedius</i> <i>Kocuria sp.</i> 2 NK | <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. haemolyticus</i> <i>S. pluranimalium</i> <i>Kocuria sp.</i> <i>B. licheniformis</i> 1 NK | |
| | | | 5 | <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. aureus</i> <i>Streptococcus sp.</i> <i>Haemophilus sp.</i> 3 NK | <i>S. pseudintermedius</i> <i>Klebsiella sp.</i> <i>Lactobacillus sp.</i> 1 NK | |

Legenda: NK = nedeterminirana kolonija, S = sterilno

Tabela v prilogi 3: Bakterije, ki smo jih izolirali pri tretjem vaginalnem porodu

Table in the annex 3: Bacteria that we isolated from the 3rd vaginal birth

| 3. MALI ANGLEŠKI HRT - WHIPPET | PSICA | | | MLADIČI | |
|--------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS SLUZNICE NOŽNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | <i>N. zoodegmatis</i> <i>P. dagmatis</i> <i>H. parainfluenzae</i> <i>P. putida</i> | <i>S. pseudintermedius</i> <i>E. faecalis</i> <i>C. xerosis</i> 1 NK | 1 | <i>Staphylococcus weaveri</i> <i>Streptococcus mitis</i> <i>Neisseria zoodegmatis</i> <i>Bacillus flexus</i> | NA |
| PO PORODU | <i>N. zoodegmatis</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>A. schindleri</i> <i>H. putorum</i> 1 NK | <i>S. pseudintermedius</i> | 2 | <i>B. megaterium</i> <i>B. pumilus</i> | NA |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | <i>A. lwoffii</i> | <i>S. pseudintermedius</i> |
| PO PORODU | <i>S. pseudintermedius</i> <i>E. faecalis</i> <i>Lactobacillus sp.</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>A. schindleri</i> | <i>S. pseudintermedius</i> | 4 | NA | <i>S. pseudintermedius</i> <i>Lactobacillus sp.</i> |
| | | | 5 | <i>S. pseudintermedius</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>A. lwoffii</i> | <i>S. pseudintermedius</i> |
| | | | 6 | S | <i>S. pseudintermedius</i> <i>Streptococcus sp.</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>E. coli</i> <i>A. canis</i> |
| | | | 7 | <i>S. epidermidis</i> <i>P. canis</i> | <i>B. thuringiensis</i> |

Legenda: NK = nedeterminirana kolonija, S = sterilno, NA = ni podatka (ang: not available)

Tabela v prilogi 4: Bakterije, ki smo jih izolirali pri 4. vaginalnem porodu

Table in the annex 4: Bacteria that we isolated from the 4th vaginal birth

| 4. ŠVICARSKI PLANŠARSKI PES | PSICA | | | MLADIČI | |
|-----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|---------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS SLUZNICE NOŽNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | <i>S. canis</i> <i>N. weaveri</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>B. zoohelcum</i> <i>Haemophilus sp.</i> <i>C. acnes</i> 4 NK | <i>S. canis</i> <i>N. animaloris</i> <i>E. faecalis</i> <i>H. haemoglobiniphilus</i> <i>Streptobacillus sp.</i> 3 NK | 1 | <i>S. haemolyticus</i> <i>S. warneri</i> <i>S. epidermidis</i> <i>Bacillus sp.</i> | NA |
| PO PORODU | <i>Moraxella sp.</i> <i>H. haemoglobiniphilus</i> <i>R. nasimurium</i> 1 NK | <i>S. epidermidis</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>R. nasimurium</i> <i>H. haemoglobiniphilus</i> | 2 | <i>S. warneri</i> <i>P. canis</i> <i>C. acnes</i> <i>Streptomyces sp.</i> | NA |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | <i>S. warneri</i> <i>Staphylococcus sp.</i> <i>Bacillus sp.</i> | NA |
| PO PORODU | <i>S. felis</i> <i>S. simulans</i> <i>Staphylococcus sp.</i> <i>Panthaea sp.</i> 1 NK | <i>Pasteurella sp.</i> <i>N. weaveri</i> | 4 | <i>Paracoccus sp.</i> <i>Corynebacterium sp.</i> 2 NK | NA |
| | | | 5 | <i>H. haemoglobiniphilus</i> | NA |
| | | | 6 | <i>S. hominis</i> | NA |

Legenda: NK = nedeterminirana kolonija, S = sterilno

Tabela v prilogi 5: Bakterije, ki smo jih izolirali pri 5. vaginalnem porodu

Table in the annex 5: Bacteria that we isolated from the 5th vaginal birth

| 5. LABRAOREC | PSICA | | | MLADIČI | |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS NOŽNICE SLUZNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | NA | NA | 1 | <i>S. pseudintermedius</i> <i>N. weaveri</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>A. canis</i> <i>F. magna</i> <i>C. acnes</i> <i>Haemophilus sp.</i> <i>Lactobacillus sp.</i> 1 NK | <i>Staphylococcus sp.</i> 1 NK |
| PO PORODU | <i>A. canis</i> <i>P. versutus</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>Lactobacillus sp.</i> <i>P. canis</i> <i>P. stomatis</i> | <i>S. canis</i> <i>S. pseudintermedius</i> <i>E. faecalis</i> <i>H. haemoglobinophilus</i> 1 NK | 2 | <i>Arthrobacter sp.</i> 1 NK | <i>C. acnes</i> <i>Bacillus sp.</i> |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | <i>Lactococcus lactis</i> | <i>C. acnes</i> <i>Lactobacillus lactis</i> <i>S. epidermidis</i> <i>Arthrobacter sp.</i> |
| PO PORODU | <i>S. pseudintermedius</i> <i>E. faecalis</i> <i>Bacillus sp.</i> <i>B. pumilus</i> <i>C. acnes</i> | NA | 4 | <i>S. haemolyticus</i> <i>S. saccharolyticus</i> | <i>F. magna</i> <i>Streptococcus sp.</i> |

Legenda: NK = nedeterminirana kolonija, S = sterilno, NA = ni podatka (ang: not available)

Tabela v prilogi 6: Bakterije, ki smo jih izolirali pri prvem elektivnem CR

Table in the annex 6: Bacteria that we isolated from the 1st elective caesarean section

| 6. YORKSHIRSKI TERIER | PSICA | | | MLADIČI | |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS SLUZNICE NOŽNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | <i>B. zoohelcum</i> <i>B. pyogenes</i> <i>F. canifelinum</i> <i>H. haemoglobinophilus</i> <i>P. aeruginosa</i> 2 NK | <i>S. pseudintermedius</i> <i>P. aeruginosa</i> 2 NK | 1 | <i>S. capitis</i> <i>S. haemolyticus</i> <i>C. acnes</i> 1 NK | <i>C. acnes</i> 1 NK |
| PO PORODU | <i>S. minor</i> <i>S. oralis</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>G. vaginalis</i> <i>A. canis</i> <i>Corynebacterium sp.</i> <i>P. multocida</i> 5 NK | <i>S. pseudintermedius</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>N. animaloris</i> <i>C. acnes</i> 2 NK | 2 | <i>S. warneri</i> 1 NK | S |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | 1 NK | S |
| PO PORODU | <i>A. weissii</i> | <i>K. palustris</i> <i>Kocuria sp.</i> <i>Bacillus sp.</i> | 4 | <i>C. acnes</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. warneri</i> | <i>C. acnes</i> |

Legenda: NK = nedeterminirana kolonija, S = sterilno

Tabela v prilogi 7: Bakterije, ki smo jih izolirali pri drugem elektivnem CR

Table in the annex 7: Bacteria that we isolated from the 2nd elective caesarean section

| 7. BOSTON TERIER | PSICA | | | MLADIČI | |
|-------------------------|----------------------------|----------------------------|---|----------------------------|------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS SLUZNICE NOŽNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | NA | NA | 1 | <i>S. pseudintermedius</i> | NA |
| PO PORODU | <i>S. pseudintermedius</i> | <i>S. pseudintermedius</i> | 2 | <i>S. pseudintermedius</i> | NA |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | <i>S. pseudintermedius</i> | NA |
| PO PORODU | <i>S. pseudintermedius</i> | <i>S. pseudintermedius</i> | 4 | <i>S. pseudintermedius</i> | NA |
| | | | 5 | NA | NA |
| | | | 6 | <i>S. pseudintermedius</i> | NA |

Legenda: NA = ni podatka (ang: not available)

Tabela v prilogi 8: Bakterije, ki smo jih izolirali pri tretjem elektivnem CR

Table in the annex 8: Bacteria that we isolated from the 3rd elective caesarean section

| 8. BOSTON TERIER | PSICA | | | MLADIČI | |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|---|-----------------------------------------------|------------------------------------------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS SLUZNICE NOŽNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | NA | NA | 1 | <i>S. warneri</i> <i>S. salivarius</i> | <i>S. haemolyticus</i> <i>S. salivarius</i> |
| PO PORODU | <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. hominis</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. salivarius</i> <i>S. minor</i> <i>N. weaveri</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>E. faecalis</i> <i>H. haemoglobinophilus</i> | <i>S. pseudintermedius</i> | 2 | <i>S. warneri</i> <i>S. hominis</i> | S |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | <i>S. haemolyticus</i> <i>K. kristinae</i> | S |
| PO PORODU | S | S | 4 | <i>S. epidermidis</i> | S |

Legenda: S = sterilno, NA = ni podatka (ang: not available)

Tabela v prilogi 9: Bakterije, ki smo jih izolirali pri četrtem elektivnem CR

Table in the annex 9: Bacteria that we isolated from the 4th elective caesarean section

| 9. BOSTON TERIER | PSICA | | | MLADIČI | |
|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|---|--------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS SLUZNICE NOŽNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | <i>S. capititis</i> <i>S. orisratti</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>B. zoohelcum</i> <i>P. intermedia</i> <i>Moraxella sp.</i> <i>Lactobacillus sp.</i> | <i>S. pseudintermedius</i> <i>M. canis</i> <i>Haemophilus sp.</i> <i>Streptococcus sp.</i> | 1 | <i>S. caprae</i> <i>S. parasanguinis</i> | S |
| PO PORODU | <i>Streptococcus sp.</i> <i>S. minor</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>P. canis</i> 4 NK | <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. hominis</i> 1 NK | 2 | <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. aureus</i> <i>S. oralis</i> <i>S. pneumoniae</i> | S |
| PO PORODU | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | <i>S. warneri</i> <i>S. epidermidis</i> | S |
| | <i>S. warneri</i> | <i>S. warneri</i> | | | |

Legenda: NK = nedeterminirana kolonija, S = sterilno

Tabela v prilogi 10: Bakterije, ki smo jih izolirali pri petem elektivnem CR

Table in the annex 10: Bacteria that we isolated from the 5th elective cesarean section

| 10. BOSTON TERIER | PSICA | | | MLADIČI | |
|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS SLUZNICE NOŽNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | <i>N. zoodegmatitis</i> <i>P. dagmatis</i> <i>Arthrobacter sp.</i> <i>Haemophilus sp.</i> <i>Flavobacterium sp.</i> | NA | 1 | <i>C. acnes</i> <i>S. warneri</i> <i>S. epidermidis</i> | S |
| PO PORODU | <i>H. haemoglobinophilus</i> <i>M. canis</i> <i>A. canis</i> <i>Actinomyces sp.</i> <i>Streptococcus sp.</i> 8 NK | <i>Lactobacillus sp.</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. haemolyticum</i> <i>R. nasimurium</i> 2 NK | 2 | <i>S. capitis</i> <i>C. acnes</i> <i>A. odontolyticum</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. warneri</i> | <i>S. aureus</i> <i>S. mitis</i> |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | <i>S. warneri</i> <i>C. acnes</i> <i>S. auricularis</i> 1 NK | <i>S. epidermidis</i> <i>S. warneri</i> 1 NK |
| PO PORODU | <i>C. acnes</i> | <i>C. acnes</i> 1 NK | | | |

Legenda: NK = nedeterminirana kolonija, S = sterilno, NA = ni podatka (ang: not available)

Tabela v prilogi 11: Bakterije, ki smo jih izolirali pri šestem elektivnem CR

Table in the annex 11: Bacteria that we isolated from the 6th elective caesarean section

| 11. VALIŽANSKI OVČAR PEMBROKE | PSICA | | | MLADIČI | |
|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|---|----------------------------------------------------|------------------------------------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS SLUZNICE NOŽNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | <i>S. pseudintermedius</i> <i>Streptococcus sp.</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>N. weaveri</i> <i>Corynebacterium sp.</i> 7 NK | <i>H. sputorum</i> 6 NK | 1 | <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. warneri</i> | <i>S. warneri</i> <i>B. zoohelcum</i> |
| PO PORODU | <i>S. pseudintermedius</i> <i>Streptococcus sp.</i> <i>N. weaveri</i> <i>B. zoohelcum</i> <i>P. stomatis</i> <i>Lactobacillus sp.</i> | <i>S. pseudintermedius</i> <i>E. caniintestini</i> | 2 | <i>S. warneri</i> <i>S. epidermidis</i> | S |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | S | S |
| PO PORODU | <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. epidermidis</i> <i>M. osloensis</i> | NA | 4 | <i>S. warneri</i> <i>S. epidermidis</i> 1 NK | S |
| | | | 5 | NA | S |
| | | | 6 | <i>S. warneri</i> <i>S. epidermidis</i> | S |
| | | | 7 | <i>S. warneri</i> | 1 NK |

Legenda: NK = nedeterminirana kolonija, S = sterilno, NA = ni podatka (ang: not available)

Tabela v prilogi 12: Bakterije, ki smo jih izolirali pri sedmem elektivnem CR

Table in the annex 12: Bacteria that we isolated from the 7th elective caesarean section

| 12. VALIŽANSKI OVČAR PEMBROKE | PSICA | | | MLADIČI | |
|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|---|--------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS NOŽNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | <i>P. dagmatis</i> <i>P. stomatis</i> <i>H. haemoglobinophilus</i> <i>N. weaveri</i> <i>E. coli</i> <i>A. canis</i> <i>P. heparinolytica</i> <i>P. gingivalis</i> 1 NK | <i>E. coli</i> <i>N. meningitidis</i> <i>R. rhodochrous</i> 1 NK | 1 | <i>S. haemolyticus</i> <i>S. warneri</i> <i>Staphylococcus sp.</i> | S |
| PO PORODU | <i>B. zoohelcum</i> <i>P. stomatis</i> <i>Haemophilus sp.</i> 2 NK | <i>H. haemoglobinophilus</i> <i>Lactobacillus sp.</i> <i>E. canintestini</i> 1 NK | 2 | <i>S. warneri</i> <i>S. epidermidis</i> | <i>S. haemolyticus</i> |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | <i>A. junni</i> | S |
| PO PORODU | <i>S. simulans</i> <i>S. epidermidis</i> <i>E. faecalis</i> | <i>S. simulans</i> <i>S. epidermidis</i> | 4 | <i>S. warneri</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. lugdunensis</i> | <i>E. coli</i> <i>P. calida</i> |

Legenda: NK = nedeterminirana kolonija, S = sterilno

Tabela v prilogi 13: Bakterije, ki smo jih izolirali pri osmem elektivnem CR

Table in the annex 13: Bacteria that we isolated from the 8th elective cesarean section

| 13. ANGLEŠKI BULDOG | PSICA | | | MLADIČI | |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|---|---------------------------------------------------------------|-----------------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS SLUZNICE NOŽNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | NA | NA | 1 | <i>S. warneri</i> | <i>C. acnes</i> |
| PO PORODU | <i>S. aureus</i> <i>S. hyovaginalis</i> <i>P. canis</i> <i>M. canis</i> <i>C. acnes</i> <i>P. gingivalis</i> <i>P. heparinolytica</i> <i>B. pyogenes</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>P. stutzeri</i> 1 NK | <i>S. canis</i> | 2 | <i>S. aureus</i> <i>C. acnes</i> <i>R. dentocariosa</i> | S |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | <i>S. aureus</i> <i>S. warneri</i> <i>C. acnes</i> | <i>S. epidermidis</i> |
| PO PORODU | S | <i>S. haemolyticus</i> <i>S. epidermidis</i> | 4 | NA | NA |

Legenda: S = sterilno, NA = ni podatka (ang: not available)

Tabela v prilogi 14: Bakterije, ki smo jih izolirali pri devetem elektivnem CR

Table in the annex 14: Bacteria that we isolated from the 9th elective caesarean section

| 14. FRANCOSKI BULDOG | PSICA | | | MLADIČI | |
|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS SLUZNICE NOŽNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | <i>S. minor</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>N. canis</i> <i>P. multocida</i> <i>B. zoohelcum</i> <i>Arthrobacter sp.</i> <i>P. aeruginosa</i> 5 NK | <i>S. canis</i> <i>E. caniintestini</i> <i>E. coli</i> <i>A. canis</i> <i>Haemophilus sp.</i> | 1 | <i>S. warneri</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. haemolyticus</i> 1 NK | S |
| PO PORODU | <i>N. zoodegmatis</i> <i>N. canis</i> <i>C. oris</i> <i>P. stomatis</i> <i>M. canis</i> 3 NK | <i>S. warneri</i> <i>S. canis</i> <i>E. caniintestini</i> <i>E. coli</i> <i>A. canis</i> | 2 | <i>S. epidermidis</i> <i>S. warneri</i> | S |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | <i>S. epidermidis</i> <i>S. warneri</i> | S |
| PO PORODU | S | S | 4 | <i>S. warneri</i> <i>S. epidermidis</i> <i>B. aurantiaca</i> | <i>S. haemolyticus</i> |
| | | | 5 | <i>S. epidermidis</i> <i>S. warneri</i> <i>S. sanguinis</i> | S |
| | | | 6 | <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. warneri</i> | S |
| | | | 7 | <i>S. epidermidis</i> <i>S. warneri</i> | 1 NK |

Legenda: NK = nedeterminirana kolonija, S = sterilno

Tabela v prilogi 15: Bakterije, ki smo jih izolirali pri desetem elektivnem CR

Table in the annex 15: Bacteria that we isolated from the 10th elective caesarean section

| 15. FRANCOSKI BULDOG | PSICA | | | MLADIČI | |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|---|-------------------------------------------|-------------------------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS SLUZNICE NOŽNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | <i>Streptococcus sp.</i> <i>S. parasanguinis</i> <i>S. canis</i> <i>M. canis</i> <i>Lactobacillus sp.</i> 2 NK | <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. canis</i> <i>E. caninitestini</i> <i>E. coli</i> | 1 | S | <i>S. epidermidis</i> |
| PO PORODU | <i>P. canis</i> <i>M. canis</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>A. canis</i> 4 NK | <i>S. canis</i> <i>E. caninitestini</i> <i>E. coli</i> <i>A. canis</i> 1 NK | 2 | S | <i>S. epidermidis</i> |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | <i>S. epidermidis</i> <i>S. oralis</i> | <i>S. epidermidis</i> |
| PO PORODU | <i>S. epidermidis</i> | <i>S. capitis</i> <i>S. pettenkoferi</i> <i>S. hominis</i> | 4 | <i>S. pettenkoferi</i> | <i>S. epidermidis</i> 1 NK |
| | | | 5 | S | <i>S. epidermidis</i> |
| | | | 6 | S | <i>S. epidermidis</i> |

Legenda: NK = nedeterminirana kolonija, S = sterilno

Tabela v prilogi 16: Bakterije, ki smo jih izolirali pri prvem urgentnem CR

Table in the annex 16: Bacteria that we isolated from the 1st urgent caesarean section

| 16. PRITLIKAVI ŠPIC-POMERANEC | PSICA | | | MLADIČI | |
|-------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|--------------------------------------------|---------------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS NOŽNICE SLUZNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | NA | NA | 1 | <i>S. warneri</i> <i>S. epidermidis</i> | <i>M. osloensis</i> |
| PO PORODU | <i>N. zoodegmatis</i> <i>P. canis</i> 3 NK | <i>S. warneri</i> <i>Lactobacillus sp.</i> <i>S. epidermidis</i> <i>Pantoea sp.</i> <i>C. perfringens</i> | 2 | NA | S |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | <i>S. warneri</i> | S |
| PO PORODU | S | <i>M. osloensis</i> | | | |

Legenda: NK = nedeterminirana kolonija, S = sterilno, NA = ni podatka (ang: not available)

Tabela v prilogi 17: Bakterije, ki smo jih izolirali pri drugem urgentnem CR

Table in the annex 17: Bacteria that we isolated from the 2nd urgent caesarean section

| 17. KODER PRITLIKAVI | PSICA | | 1 | MLADIČA | |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------|-----------------------|---|----------------------|------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS SLUZNICE NOŽNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | NA | NA | | S | S |
| PO PORODU | <i>S. minor</i> <i>P. dagmatis</i> <i>P. stomatis</i> | S | 2 | <i>Moraxella sp.</i> | S |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | | | |
| PO PORODU | S | S | | | |

Legenda: S = sterilno, NA = ni podatka (ang: not available)

Tabela v prilogi 18: Bakterije, ki smo jih izolirali pri tretjem urgentnem CR

Table in the annex 18: Bacteria that we isolated from the 3rd urgent caesarean section

| 18. VALIŽANSKI OVČAR PEMBROKE | PSICA | | | MLADIČI | |
|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|---|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS NOŽNICE SLUZNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | <i>S. minor</i> <i>S. canis</i> <i>A. canis</i> <i>P. dagmatis</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>B. zoohelcum</i> <i>C. oris</i> 4 NK | <i>S. canis</i> <i>S. equi subsp. zooepidemicus</i> <i>B. cereus</i> 2 NK | 1 | <i>S. epidermidis</i> | <i>S. warneri</i> <i>S. aureus</i> <i>Pasteurella sp.</i> <i>C. acnes</i> |
| PO PORODU | <i>Streptococcus sp.</i> <i>P. dagmatis</i> <i>S. moniliformis</i> <i>H. haemoglobinophilus</i> 4 NK | <i>S. pseudintermedius</i> <i>C. perfringens</i> <i>Pasteurella sp.</i> | 2 | <i>S. epidermidis</i> | <i>S. epidermidis</i> <i>S. sanguinis</i> |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | <i>S. epidermidis</i> <i>C. acnes</i> <i>R. mucilaginosa</i> 1 NK | <i>S. epidermidis</i> <i>Streptococcus sp.</i> <i>A. oris</i> |
| PO PORODU | S | <i>P. acnes</i> | 4 | <i>S. epidermidis</i> <i>S. pluranimalium</i> <i>C. acnes</i> <i>P. granulosum</i> <i>L. johnsonii</i> 1 NK | 1 NK |
| | | | 5 | <i>S. warneri</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. oralis</i> <i>S. sanguinis</i> <i>C. acnes</i> | <i>St. warneri</i> <i>S. epidermidis</i> <i>C. acnes</i> |
| | | | 6 | <i>S. capitis</i> | <i>Streptococcus sp.</i> |

Legenda: NK = nedeterminirana kolonija, S = sterilno

Tabela v prilogi 19: Bakterije, ki smo jih izolirali pri četrtem urgentnem CR

Table in the annex 19: Bacteria that we isolated from the 4th urgent caesarean section

| 19. NOVO-FUNDLANDEC | PSICA | | MLADIČI | | |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|---------------------------|--------------------------------------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS SLUZNICE NOŽNICE | MEKONIJ | POSTELJICA | |
| PRED PORODOM | <i>S. mitis</i> <i>S. minor</i> <i>P. dagmatis</i> <i>N. weaveri</i> <i>R. nasimurium</i> <i>C. auriscanis</i> <i>P. aeruginosa</i> 5 NK | <i>S. haemolyticus</i> <i>S. mitis</i> <i>S. canis</i> <i>H. haemoglobinophilus</i> 7 NK | 1 | S | S |
| PO PORODU | <i>Staphylococcus sp.</i> <i>N. weaveri</i> <i>A. canis</i> 1 NK | <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. canis</i> <i>M. osloensis</i> | 2 | <i>B. simplex</i> 1 NK | <i>S. haemolyticus</i> |
| | KOLOSTRUM | MLEKO | 3 | S | <i>S. warneri</i> <i>S. epidermidis</i> |
| PO PORODU | <i>B. cereus</i> | <i>B. cereus</i> | 4 | S | 1 NK |
| | | | 5 | S | S |
| | | | 6 | <i>Staphylococcus sp.</i> | S |
| | | | 7 | S | S |
| | | | 8 | S | <i>Staphylococcus sp.</i> |
| | | | 9 | S | S |

Legenda: NK = nedeterminirana kolonija, S = sterilno

Tabela v prilogi 20: Bakterije, ki smo jih izolirali pri petem urgentnem CR

Table in the annex 20: Bacteria that we isolated from the 5th urgent caesarean section

| 20. NEMŠKI OVČAR | PSICA | | | MLADIČA | |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|-------|---------|----------------------------|
| | BRIS USTNE SLUZNICE | BRIS NOŽNICE SLUZNICE | | MEKONIJ | POSTELJICA |
| PRED PORODOM | NA | NA | 1 | NA | S |
| PO PORODU | <i>S. pseudintermedius</i> <i>S. minor</i> <i>P. canis</i> <i>M. canis</i> <i>N. zoodegmatis</i> 3 NK | <i>S. pseudintermedius</i> <i>K. oxytoca</i> <i>H. sputorum</i> 2 NK | 2 | NA | <i>S. pseudintermedius</i> |
| | KOLOSTRUM | | MLEKO | | |
| PO PORODU | NA | <i>S. pseudintermedius</i> | | | |

Legenda: NK = nedeterminirana kolonija, S = sterilno, NA = ni podatka (ang: not available)

9.4 PRILOGA 4 – TABELE, V KATERIH JE PREDSTAVLJENA ZASTOPANOST POSAMEZNIH BAKTERIJSKIH VRST V RAZLIČNIH VZORCIH IN PRI RAZLIČNIH TIPIH PORODA

Tabela v prilogi 21: Zastopanost bakterijskih vrst v vzorcih ustne sluznice psic

Table in the annex 21: Number and percentages of bacterial species in oral mucosa samples

| Bakterijska vrsta | Število izolatov | Odstotek [%] |
|----------------------------------------|------------------|--------------|
| NK | 25 | 12,82 |
| <i>Neisseria zoodegmatis</i> | 15 | 7,69 |
| <i>Actinomyces canis</i> | 9 | 4,62 |
| <i>Streptococcus spp.</i> | 9 | 4,62 |
| <i>Neisseria weaveri</i> | 8 | 4,10 |
| <i>Streptococcus minor</i> | 8 | 4,10 |
| <i>Bergeyella zoohelcum</i> | 7 | 3,59 |
| <i>Haemophilus haemoglobinophilus</i> | 7 | 3,59 |
| <i>Pasteurella dagmatis</i> | 7 | 3,59 |
| <i>Pasteurella stomatis</i> | 6 | 3,08 |
| <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> | 6 | 3,08 |
| <i>Moraxella canis</i> | 5 | 2,56 |
| <i>Haemophilus spp.</i> | 4 | 2,05 |
| <i>Lactobacillus spp.</i> | 4 | 2,05 |
| <i>Moraxella spp.</i> | 4 | 2,05 |
| <i>Pasteurella canis</i> | 4 | 2,05 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 4 | 2,05 |
| <i>Arthrobacter spp.</i> | 3 | 1,54 |
| <i>Cutibacterium acnes</i> | 3 | 1,54 |
| <i>Pasteurella multocida</i> | 3 | 1,54 |
| <i>Peptostreptococcus canis</i> | 3 | 1,54 |
| <i>Streptococcus canis</i> | 3 | 1,54 |
| <i>Bacteroides pyogenes</i> | 2 | 1,03 |
| <i>Canibacter oris</i> | 2 | 1,03 |
| <i>Corynebacterium spp.</i> | 2 | 1,03 |
| <i>Escherichia coli</i> | 2 | 1,03 |
| <i>Neisseria canis</i> | 2 | 1,03 |
| <i>Porphyromonas gingivalis</i> | 2 | 1,03 |
| <i>Prevotella heparinolytica</i> | 2 | 1,03 |
| <i>Rothia nasimurium</i> | 2 | 1,03 |
| <i>Streptococcus hyovaginalis</i> | 2 | 1,03 |
| <i>Acinetobacter schindleri</i> | 1 | 0,51 |

| | | |
|------------------------------------------------------|------------|---------------|
| <i>Actinomyces spp.</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Corynebacterium auriscanis</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Eubacterium tenue</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Flavobacterium spp.</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Fusobacterium canifelinum</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Gardnerella vaginalis</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Haemophilus sputorum</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Mycoplasma canis</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Neisseria animaloris</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Neisseria spp.</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Paracoccus versutus</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Pasteurella spp.</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Prevotella intermedia</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Pseudomonas putida</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Pseudomonas stutzeri</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Staphylococcus capitis</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Staphylococcus hominis</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Staphylococcus mitis</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Staphylococcus spp.</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Streptobacillus moniliformis</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Streptococcus oralis</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Streptococcus orisratti</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Streptococcus parasanguinis</i> | 1 | 0,51 |
| <i>Streptococcus salivarius</i> | 1 | 0,51 |
| Vsota | 195 | 100,00 |

Tabela v prilogi 22: Zastopanost bakterijskih vrst v vzorcih sluznice nožnice

Table in the annex 22: Number and percentages of bacterial species in vaginal mucosa samples

| Bakterijska vrsta | Število izolatov | Odstotek [%] |
|----------------------------------------|------------------|--------------|
| NK | 17 | 14,53 |
| <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> | 17 | 14,53 |
| <i>Streptococcus canis</i> | 11 | 9,40 |
| <i>Enterococcus canintestini</i> | 6 | 5,13 |
| <i>Haemophilus haemoglobinophilus</i> | 6 | 5,13 |
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 4,27 |

| | | |
|-------------------------------------------------------|------------|---------------|
| <i>Streptococcus spp.</i> | 4 | 3,42 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 4 | 3,42 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 4 | 3,42 |
| <i>Haemophilus spp.</i> | 4 | 3,42 |
| <i>Lactobacillus spp.</i> | 3 | 2,56 |
| <i>Arcanobacterium canis</i> | 3 | 2,56 |
| <i>Neisseria zoodegmatis</i> | 2 | 1,71 |
| <i>Rothia nasimurium</i> | 2 | 1,71 |
| <i>Haemophilus sputorum</i> | 2 | 1,71 |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 2 | 1,71 |
| <i>Staphylococcus haemolyticus</i> | 2 | 1,71 |
| <i>Neisseria animaloris</i> | 2 | 1,71 |
| <i>Staphylococcus warneri</i> | 2 | 1,71 |
| <i>Eubacterium tenue</i> | 1 | 0,85 |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | 1 | 0,85 |
| <i>Staphylococcus hominis</i> | 1 | 0,85 |
| <i>Corynebacterium xerosis</i> | 1 | 0,85 |
| <i>Micrococcus lylae</i> | 1 | 0,85 |
| <i>Streptobacillus spp.</i> | 1 | 0,85 |
| <i>Cutibacterium acnes</i> | 1 | 0,85 |
| <i>Streptococcus mitis</i> | 1 | 0,85 |
| <i>Moraxella osloensis</i> | 1 | 0,85 |
| <i>Mycoplasma canis</i> | 1 | 0,85 |
| <i>Clostridium spp.</i> | 1 | 0,85 |
| <i>Bacillus cereus</i> | 1 | 0,85 |
| <i>Pantoea spp.</i> | 1 | 0,85 |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> | 1 | 0,85 |
| <i>Pasteurella spp.</i> | 1 | 0,85 |
| <i>Streptococcus equi subsp. <i>zooepidemicus</i></i> | 1 | 0,85 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1 | 0,85 |
| <i>Rhodococcus rhodochrous</i> | 1 | 0,85 |
| <i>Neisseria meningitidis</i> | 1 | 0,85 |
| Vsota | 117 | 100,00 |

Tabela v prilogi 23: Zastopanost bakterijskih vrst v vzorcih mekonijev pri elektivnih carskih rezih

Table in the annex 23: Percentages of bacterial species in meconium samples from elective cesarean sections

| Bakterijska vrsta | Število izolatov | Odstotek [%] |
|----------------------------------------|------------------|--------------|
| <i>Staphylococcus warneri</i> | 25 | 28,09 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 18 | 20,22 |
| <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> | 8 | 8,99 |

| | | |
|------------------------------------|-----------|---------------|
| <i>Cutibacterium acnes</i> | 7 | 7,87 |
| NK | 6 | 6,74 |
| <i>Staphylococcus haemolyticus</i> | 4 | 4,49 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 3 | 3,37 |
| <i>Staphylococcus capitis</i> | 2 | 2,25 |
| <i>Streptococcus oralis</i> | 2 | 2,25 |
| <i>Acinetobacter junni</i> | 1 | 1,12 |
| <i>Actinomyces odontolyticum</i> | 1 | 1,12 |
| <i>Brevundimonas aurantiaca</i> | 1 | 1,12 |
| <i>Kocuria kristinae</i> | 1 | 1,12 |
| <i>Rothia dentocariosa</i> | 1 | 1,12 |
| <i>Staphylococcus auricularis</i> | 1 | 1,12 |
| <i>Staphylococcus caprae</i> | 1 | 1,12 |
| <i>Staphylococcus hominis</i> | 1 | 1,12 |
| <i>Staphylococcus lugdunensis</i> | 1 | 1,12 |
| <i>Staphylococcus pettenkoferi</i> | 1 | 1,12 |
| <i>Streptococcus parasanguinis</i> | 1 | 1,12 |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 1 | 1,12 |
| <i>Streptococcus salivarius</i> | 1 | 1,12 |
| <i>Streptococcus sanguinis</i> | 1 | 1,12 |
| Vsota | 89 | 100,00 |

Tabela v prilogi 24: Zastopanost bakterijskih vrst v vzorcih mekonijev pri urgentnih carskih rezih

Table in the annex 24: Number and percentages of bacterial species in meconium samples from emergency cesarean sections

| Bakterijska vrsta | Število izolatov | Odstotek [%] |
|------------------------------------|------------------|---------------|
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 6 | 25,00 |
| <i>Cutibacterium acnes</i> | 3 | 12,50 |
| <i>Staphylococcus warneri</i> | 3 | 12,50 |
| NK | 2 | 8,33 |
| <i>Bacillus simplex</i> | 1 | 4,17 |
| <i>Lactobacillus johnsonii</i> | 1 | 4,17 |
| <i>Moraxella spp.</i> | 1 | 4,17 |
| <i>Cutibacterium granulosum</i> | 1 | 4,17 |
| <i>Rothia mucilaginosa</i> | 1 | 4,17 |
| <i>Staphylococcus capitis</i> | 1 | 4,17 |
| <i>Staphylococcus spp.</i> | 1 | 4,17 |
| <i>Streptococcus oralis</i> | 1 | 4,17 |
| <i>Streptococcus pluranimalium</i> | 1 | 4,17 |
| <i>Streptococcus sanguinis</i> | 1 | 4,17 |
| Vsota | 24 | 100,00 |

Tabela v prilogi 25: Zastopanost bakterijskih vrst v vzorcih mekonijev pri vaginalnih porodih

Table in the annex 25: Number and percentages of bacterial species in meconium samples from vaginal deliveries

| Bakterijska vrsta | Število izolatov | Odstotek [%] |
|-----------------------------------------|------------------|--------------|
| NK | 11 | 11,70 |
| <i>Neisseria zoodegmati</i> s | 8 | 8,51 |
| <i>Staphylococcus pseudointermedius</i> | 7 | 7,45 |
| <i>Staphylococcus warneri</i> | 7 | 7,45 |
| <i>Cutibacterium acnes</i> | 5 | 5,32 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 4 | 4,26 |
| <i>Neisseria weaveri</i> | 3 | 3,19 |
| <i>Acinetobacter lwoffii</i> | 2 | 2,13 |
| <i>Bacillus megaterium</i> | 2 | 2,13 |
| <i>Bacillus spp.</i> | 2 | 2,13 |
| <i>Bergeyella zoohelcum</i> | 2 | 2,13 |
| <i>Corynebacterium spp.</i> | 2 | 2,13 |
| <i>Haemophilus spp.</i> | 2 | 2,13 |
| <i>Kocuria spp.</i> | 2 | 2,13 |
| <i>Lactobacillus spp.</i> | 2 | 2,13 |
| <i>Lactococcus lactis</i> | 2 | 2,13 |
| <i>Pasteurella dagmatis</i> | 2 | 2,13 |
| <i>Pasteurella multocida</i> | 2 | 2,13 |
| <i>Staphylococcus haemolyticus</i> | 2 | 2,13 |
| <i>Staphylococcus spp.</i> | 2 | 2,13 |
| <i>Streptococcus mitis</i> | 2 | 2,13 |
| <i>Streptococcus oralis</i> | 2 | 2,13 |
| <i>Streptococcus spp.</i> | 2 | 2,13 |
| <i>Staphylococcus spp.</i> | 1 | 1,06 |
| <i>Actinomyces canis</i> | 1 | 1,06 |
| <i>Arthrobacter spp.</i> | 1 | 1,06 |
| <i>Bacillus flexus</i> | 1 | 1,06 |
| <i>Bacillus pumilus</i> | 1 | 1,06 |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> | 1 | 1,06 |
| <i>Escherichia coli</i> | 1 | 1,06 |
| <i>Finegoldia magna</i> | 1 | 1,06 |
| <i>Haemophilus haemoglobinophilus</i> | 1 | 1,06 |
| <i>Macrococcus caseolyticus</i> | 1 | 1,06 |
| <i>Moraxella spp.</i> | 1 | 1,06 |
| <i>Pasteurella stomatis</i> | 1 | 1,06 |
| <i>Rothia spp.</i> | 1 | 1,06 |
| <i>Staphylococcus arlettae</i> | 1 | 1,06 |
| <i>Staphylococcus hominis</i> | 1 | 1,06 |

| | | |
|---------------------------------------|-----------|---------------|
| <i>Staphylococcus saccharolyticus</i> | 1 | 1,06 |
| <i>Streptomyces spp.</i> | 1 | 1,06 |
| Vsota | 94 | 100,00 |

Tabela v prilogi 26: Zastopanost bakterijskih vrst v vzorcih posteljic pri elektivnih carskih rezih

Table in the annex 26: Number and percentages of bacterial species in placenta samples from elective cesaerean sections

| Bakterijska vrsta | Število izolatov | Odstotek [%] |
|------------------------------------|------------------|---------------|
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 7 | 26,92 |
| NK | 5 | 19,23 |
| <i>Cutibacterium acnes</i> | 3 | 11,54 |
| <i>Staphylococcus haemolyticus</i> | 3 | 11,54 |
| <i>Staphylococcus warneri</i> | 2 | 7,69 |
| <i>Bergeyella zoohelcum</i> | 1 | 3,85 |
| <i>Escherichia coli</i> | 1 | 3,85 |
| <i>Pantoea calida</i> | 1 | 3,85 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 1 | 3,85 |
| <i>Streptococcus mitis</i> | 1 | 3,85 |
| <i>Streptococcus salivarius</i> | 1 | 3,85 |
| Vsota | 26 | 100,00 |

Tabela v prilogi 27: Zastopanost bakterijskih vrst v vzorcih posteljic pri urgentnih carskih rezih

Table in the annex 27: Number and percentages of bacterial species in placenta samples from emergency cesaerean sections

| Bakterijske vrste | Število izolatov | Odstotek [%] |
|----------------------------------------|------------------|---------------|
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 4 | 16,67 |
| NK | 3 | 12,50 |
| <i>Staphylococcus warneri</i> | 3 | 12,50 |
| <i>Cutibacterium acnes</i> | 2 | 8,33 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 2 | 8,33 |
| <i>Streptococcus spp.</i> | 2 | 8,33 |
| <i>Actinomyces oris</i> | 1 | 4,17 |
| <i>Moraxella osloensis</i> | 1 | 4,17 |
| <i>Pasteurella spp.</i> | 1 | 4,17 |
| <i>Staphylococcus haemolyticus</i> | 1 | 4,17 |
| <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> | 1 | 4,17 |
| <i>Staphylococcus spp.</i> | 1 | 4,17 |
| <i>Streptococcus mitis</i> | 1 | 4,17 |
| <i>Streptococcus sanguinis</i> | 1 | 4,17 |
| Vsota | 24 | 100,00 |

Tabela v prilogi 28: Zastopanost bakterijskih vrst v vzorcih posteljic pri vaginalnih porodih

Table in the annex 28: Number and percentages of bacterial species in placenta samples from vaginal deliveries

| Bakterijska vrsta | Število izolatov | Odstotek [%] |
|----------------------------------------|------------------|---------------|
| <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> | 6 | 17,6 |
| <i>Lactobacillus spp.</i> | 3 | 8,82 |
| NK | 3 | 8,82 |
| <i>Cutibacterium acnes</i> | 3 | 8,82 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 3 | 8,82 |
| <i>Staphylococcus spp.</i> | 2 | 5,88 |
| <i>Streptococcus spp.</i> | 2 | 5,88 |
| <i>Actinomyces canis</i> | 1 | 2,94 |
| <i>Arthrobacter spp.</i> | 1 | 2,94 |
| <i>Bacillus licheniformis</i> | 1 | 2,9 |
| <i>Bacillus spp.</i> | 1 | 2,9 |
| <i>Escherichia coli</i> | 1 | 2,9 |
| <i>Finegoldia magna</i> | 1 | 2,9 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 1 | 2,9 |
| <i>Klebsiella spp.</i> | 1 | 2,9 |
| <i>Kocuria spp.</i> | 1 | 2,9 |
| <i>Lactobacillus lactis</i> | 1 | 2,9 |
| <i>Pasteurella canis</i> | 1 | 2,9 |
| <i>Streptococcus pluranimalium</i> | 1 | 2,94 |
| Vsota | 34 | 100,00 |