

# Utvrđivanje zdravstvenog stanja riječnih kornjača (Mauremys rivulata)

---

Grgoić, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:716898>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-08**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu

Veterinarski fakultet

Ana Grgoić

**UTVRĐIVANJE ZDRAVSTVENOG STANJA RIJEČNIH  
KORNJAČA (*Mauremys rivulata*)**

Diplomski rad

Zagreb, 2019.

Zavod za bolesti peradi s klinikom  
Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Predstojnik zavoda: doc. dr. sc. Željko Gottstein

Mentorica: izv. prof. dr. sc. Danijela Horvatek Tomić

Komentorica: dr. sc. Maja Lukač

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. doc. dr. sc. Željko Gottstein
2. doc. dr. sc. Josipa Habuš
3. izv. prof. dr. sc. Danijela Horvatek Tomić
4. dr. sc. Maja Lukač (zamjena)

## ZAHVALE

Zahvaljujem se svojoj komentorici dr. sc. Maji Lukač koja mi je omogućila realizaciju praktičnog dijela ovog diplomskoga rada i pomogla u izradi rada. Hvala na pomoći pri pisanju rada mojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Danijeli Horvatek Tomić. Zahvaljujem na svim stručnim savjetima i uloženom trudu.

Zahvaljujem se Ustanovi Zoolški vrt Grada Zagreba što su mi omogućili dolazak u Zoološki vrt i provođenje istraživanja na riječnim kornjačama.

Hvala asistentici Luciji Bastiančić, dr. med. vet. na pomoći.

Veliko hvala mojim prijateljima i kolegama koji su mi bili podrška tijekom studiranja.

Najviše se zahvaljujem svojoj obitelji na neizmjerne podršci tijekom studiranja, hvala vam što ste uvijek bili tu za mene.

Ovaj diplomski rad posvećujem svojoj baki Kati, hvala ti.

# Sadržaj

1. UVOD .....	1
2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA.....	2
2.1. Kornjače .....	2
2.2. Riječne kornjače ( <i>Mauremys rivulata</i> ).....	3
2.2.1. Izgled.....	4
2.2.2. Rasprostranjenost .....	4
a) U svijetu .....	4
b) U Hrvatskoj .....	5
2.2.3. Stanište .....	6
2.2.4. Način života.....	7
2.2.5. Prehrana.....	8
2.2.6. Status .....	8
2.3. Probavni sustav gmazova .....	9
2.4. Mikroflora probavnog sustava gmazova .....	10
2.5. Bakterijske i gljivične bolesti kornjača .....	11
3. MATERIJALI I METODE.....	13
3.1. Klinička pretraga životinja .....	13
3.2. Uzimanje obrisaka usne šupljine i kloake .....	14
3.3. Laboratorijska pretraga uzoraka .....	15
3.3.1. Standardna mikrobiološka pretraga.....	15
3.3.2. Dokaz bakterija roda <i>Salmonella</i> sp. iz obrisaka kloake .....	16
3.3.3. Dokaz bakterija roda <i>Campyobacter</i> sp. iz obrisaka kloake.....	16
3.3.4. Identifikacija gljivica.....	16
4. REZULTATI.....	17
4.1. Rezultati bakteriološke pretrage .....	17
4.2. Rezultati mikološke pretrage.....	19
5. RASPRAVA.....	20
6. ZAKLJUČCI.....	24
7. LITERATURA.....	25
8. SAŽETAK.....	33
9. SUMMARY .....	35
10. ŽIVOTOPIS .....	37

## Popis slika:

Slika 1.	Konavosko polje - jezero, IUCN-Uncertain future of Balkan Terrapian. .... 6 (preuzeto, 20. ožujka 2019.)
Slika 2.	Materijal korišten pri uzorkovanju životinja ..... 13
Slika 3.	Vaganje kornjače ..... 13
Slika 4.	Mjerenje kornjače ..... 14
Slika 5.	Uzimanje obriska usne šupljine ..... 14
Slika 6.	Uzimanje obriska kloake ..... 15

## Popis tablica:

Tablica 1.	Zastupljenost bakterija izdvojenih iz usne šupljine riječnih kornjača ..... 17
Tablica 2.	Zastupljenost bakterija izdvojenih iz kloake riječnih kornjača ..... 18
Tablica 3.	Zastupljenost gljivica izdvojenih iz kloake riječnih kornjača ..... 19

## 1. UVOD

Riječne kornjače (*Mauremys rivulata*) poznate još i kao Balkanske ili Kaspijske kornjače su poluvodne kornjače iz porodice *Geomydidae* koje naseljavaju Europu i Aziju. Njihova rasprostranjenost u Europi ograničena je na Balkanski poluotok, a u Republici Hrvatskoj se nalaze na tri geografski izolirana područja (Ston, Konavosko polje i Gornji Majkovi), gdje ima otprilike oko 600 jedinki (JELIĆ i sur., 2015.). Njihova ugroženost posljedica je nagle urbanizacije, koja za posljedicu ima ubrzani nestanak, degradaciju i fragmentaciju staništa na kojem ove kornjače obitavaju.

Dok se na globalnoj razini, prema Međunarodnom savezu za očuvanje prirode (IUCN-International Union for the Conservation of Nature and Natural resources) smatraju slabo ugroženim (LC) (IUCN, 2004.), u Republici Hrvatskoj su strogo zaštićene Zakonom o zaštiti prirode te se nalaze u Crvenoj knjizi vodozemaca i gmazova Hrvatske (JELIĆ i sur., 2015.).

S obzirom da o zdravstvenom stanju ove vrste kornjače, kao i o mikroorganizmima koji potencijalno mogu ugroziti samu populaciju riječnih kornjača nema mnogo podataka, ovim istraživanjem želio se dobiti uvid u mikroorganizme koji naseljavaju probavni sustav riječnih kornjača s naglaskom na oportunističke i/ili prave patogene koji mogu ugroziti zdravlje samih kornjača, ali i ljudi koji s njima dolaze u kontakt.

Istraživanje je provedeno na šest riječnih kornjača (*M. rivulata*) nepoznatog podrijetla smještenih u karantenskom prostoru Ustanove Zoološki vrt grada Zagreba nakon zapljene na granici.

Cilj istraživanja bio je utvrditi koje bakterije i gljivice prevladavaju u probavnom sustavu riječnih kornjača, te koji mikroorganizmi mogu potencijalno narušiti njihovo zdravstveno stanje. U tu svrhu su uzeti obrisci usne šupljine i kloake. Uzeti uzorci obrađeni su u bakteriološkom laboratoriju Zavoda za bolesti peradi s Klinikom.

## 2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA

### 2.1. Kornjače

Kornjače se klasificiraju kao gmazovi te su prepoznatljive po svom koštanom oklopu. Pripadaju redu *Testudines*, a prvi poznati primjerci datiraju od prije 200 milijuna godina što ih čini jednom od najstarijih skupina gmazova, starijom od zmija i krokodila (EVANS, 1986.). Red *Testudines* (vodene i kopnene kornjače) čini oko 14 porodica rasprostranjenih na svim kontinentima, od kojih se njih pet javlja na području Europe (*Cheloniidae*, *Dermochelyidae*, *Testudinidae*, *Geoemydidae* i *Emydidae*) s ukupno osam vrsta kornjača (JELIĆ i sur., 2012.).

Najvećim kornjačama smatraju se morska kornjača sedmopruga usminjača (*Dermochelys coriacea*) koja može težiti preko 680 kg i galapagoska kornjača (*Geochelone nigra*) koja teži oko 263 kg (O'MALLEY, 2005.). Od svih gmazova, kornjače žive najduže, a u zatočeništvu mogu živjeti i preko 50 godina. Velike vrste kornjača, poput galapagoske kornjače mogu živjeti i preko 150 godina (BELLAIRS 1969.; POUGH i sur. 1998., 2002.).

Vanjsku strukturu tijela kornjača čini oklop, po čemu su kornjače jedinstvene i lako prepoznatljive. Oklop kornjača sastoji se od leđnog djela (karapaksa) i trbušnog djela (plastrona) koji su međusobno povezani mostom (O'MALLEY, 2005.). Oklop je formiran od koštane ploče, modificiranog prsnog i zdjeličnog pojasa, prsnih kralježaka, križne kosti i rebara (POUGH i sur., 1998; ZANGERL, 1970.). U kopnenih kornjača oklop je kupolast i vrlo jak te im pruža dostatnu zaštitu u slučaju opasnosti od predatora, dok vodene kornjače imaju tanji oklop.

Kornjače su ektotermne životinje (BOYER i BOYER, 1996.), s temperaturnom oscilacijom od 22°C do 33°C, ovisno o vrsti, što znači da njihova tjelesna temperatura ovisi o vanjskim izvorima topline. Tijekom hibernacije, kopnene kornjače se zakapaju pod zemlju, dok se vodene kornjače zakapaju u mulj, gdje je voda toliko gusta da se ne smrzava (O'MALLEY, 2005.). Tijekom hibernacije kornjače dišu anaerobnim metabolizmom, iskorištavajući otopljen kisik kroz kožu i ždrijelnu miškulaturu (GREGORY, 1982.).



Kornjače se dijele na kopnene, morske i slatkovodne, a obzirom na tu podjelu one su se anatomski modificirale (O'MALLEY, 2005.). Kopnene kornjače se u pravilu mogu naći u područjima gdje prevladava vruća i suša klima (EVANS, 1986.; HOFFSTETTER i GASC 1970.; POUGH i sur., 1998). Na takvu klimu prilagodile su se debelom kožom i velikim ljuskama kako bi izbjegle isušivanje (O'MALLEY, 2005.). Vodene kornjače - morske i slatkovodne, lako su se prilagodile na život u vodi tako što koriste anaerobni metabolizam te dišu kroz kožu, ždrijelo i kloaku (GREGORY, 1982.). Također, imaju sposobnost preusmjerenja kisika iz pluća prilikom zarona i na taj način podnose različiti acidobazni disbalans (O'MALLEY, 2005.).

## 2.2. Riječne kornjače (*Mauremys rivulata*)

Kornjače vrste *M. rivulata* pripadaju porodici *Geoemydidae*, jednoj od najvećih i najraznovidnijih porodica kornjača. Kornjače ove porodice su različite veličine te se vrlo često javlja spolni dimorfizam. Može ih se naći u tropskim i subtropskim predjelima Europe, Azije i Sjeverne Afrike. Prema načinu prehrane riječne kornjače spadaju u svejede, iako kao mlade više preferiraju mesnu hranu, a kao odrasle jedinke biljnu. Obitavaju u slatkovodnim ekosustavima, priobalnim morskim područjima i tropskim šumama. Oko 70% postojećih vrsta kornjača porodice *Geoemydidae* zabilježeno je u ugroženom ili ranjivom stanju (ANONIMUS, 2019.).

### SISTEMATIKA:

Carstvo: *Animalia*

Koljeno: *Chordata*

Razred: *Reptilia*

Red: *Testudines*

Porodica: *Geoemydidae*

Rod: *Mauremys*

Vrsta: *Rivulata*

### 2.2.1. Izgled

Riječne kornjače spadaju u kornjače srednje veličine. Generalno, mužjaci su sitniji, s konkavnim plastronom (donja strana oklopa) (WISCHUF i BUSACK, 2001.; RIFAI i AMR 2004.). Veličina karapaksa (gornja strana oklopa) u ženki iznosi oko 244 mm, a u mužjaka do 187 mm ( RIFAI I AMR, 2004.; MANTZIOU, 2006.). Mužjaci imaju duži rep te je baza repa šira nego u ženki. Leđni i prsni dio oklopa čvrsto su spojeni. Leđni dio oklopa blago je ispupčen i sastoji se iz pet središnjih ili vertebralnih kralježaka (*Vertebralnia*), četiri rebrena ili kostalna (*Costalia*) i 25 iveričnih ili marginalnih ploča (*Marginalia*). Nadrepna ili suprakaudalna ploča (*Supercaudalia*) je uvijek parna. Prednji udovi imaju pet kandži, dok stražnji udovi imaju samo četiri (WISCHUF i BUSACK, 2001.). Karapaks odraslih jedinki obično je ravnomjerno smeđ i/ili maslinasto zelen do zelen, sa slabim uzorkom ili bez njega. Temeljna boja mekih dijelova životinje je tamna, nalik boji karapaksa te se na vratu i nogama javljaju longitudinalne blijedožute linije (RIFAI i AMR, 2004). Plastron mlađih jedinki je taman do crn, dok na rubovima mogu prominirati žućkasti oblici. Odrasle životinje rijetko kada imaju svijetle oblike, no sa starošću plastron posvijetli i postaje sve žući.

### 2.2.2. Rasprostranjenost

#### a) U svijetu

Riječne kornjače su u Europi ograničene na Balkanski poluotok te ih se može pronaći na području od zapadne Turske do jugoistoka Europe. U ta područja u Europi pripadaju sljedeće države i otoci: jugoistočna Makedonija, južna Bugarska, dio kopna Grčke, Albanija, Crna Gora, mnogi egejski i jonski otoci (Jonski poluotok, Limnos, Lesbos, Paros, Sifnos, Rodos, Korf, Milos, Tinos), Kreta (WISCHUF i BUSACK, 2001.). Osim na Balkanu, nalazimo je i na mediteranskom području europske i azijske Turske, u obalnoj Siriji, Libanonu, čitavom Jordanu (AL-QURAN, 2009.), te sjevernom i središnjem Izraelu (FRITZ i WISCHUF, 1997.) i Palestini, uključujući pojas Gaze (ABD RABOU i sur., 2007.).

## b) U Hrvatskoj

Riječna je kornjača zabilježena u južnoj Hrvatskoj na nekoliko nepovezanih lokaliteta, izloženih jakom utjecaju ljudske aktivnosti. U zabilježene lokalitete spadaju:

### Južni dio Konavoskoga polja

Ovdje se nalazi najveća mikropulacija koja se procjenjuje na oko 300 jedinki, na prostoru od obronaka Snježnice prema granici s Crnom Gorom (KOREN i ŠALAMON, 2009.).

Kroz polje prolaze rječice Ljuta i Konavočica, a postoji i veliki broj kanala za navodnjavanje. U prošlosti su rijeke periodično poplavljivale i zamočvarivale polja, što je ovaj kraj činilo izuzetno pogodnim staništem za riječne kornjače. Međutim u posljednje vrijeme njihov broj se uvelike smanjio.

### Stonsko polje

U širem vlažnom bočatom području kraj solane, nalazi se mala populacija riječnih kornjača. Močvarno stanište, koje je relativno dobro sačuvano uz obodni kanal Stonske solane, od izuzetnog je značaja i za ornitofaunu.

### Zaleđe obale između Stona i Konavla prema granici s Hercegovinom (Majkovi, Prljevići)

Danas populacija u Majkovima broji oko 150 odraslih jedinki koje naseljavaju tri manje bare u selima Majkovi i Prljevići (JELIĆ, 2013.).

Dvije manje lokve kraj Gornjih Majkova jedno su od najpoznatijih obitavališta riječne kornjače te je ovo područje predloženo za zaštitu kao posebni herpetološki rezervat.



Slika 1. Konavosko polje-jezero

(Izvor: IUCN-Uncertain future of Balkan Terrapin, 2019.)

### 2.2.3. Stanište

Riječne kornjače su uglavnom nizinska vrsta, iako se mogu naći i na prostorima do 900 metara nadmorske visine. U razdoblju od proljeća do ljeta nalaze se u potocima, rijekama, kanalima za navodnjavanje, lokvama, izvorima, močvarama i jezerima u populacijama visoke gustoće (AYAZ i BUDAK, 2008). Riječne kornjače preferiraju mirnije vode s muljevitim dnom i vegetacijom te se obično ne uočavaju u brzim (reguliranim) dijelovima toka rijeka (TOK, 1999.). Iako riječne kornjače podnose različite mikroklimatske i okolišne uvjete (širok raspon temperatura, salinitet, brzinu vode pH, te onečišćenja) u svrhu očuvanja vrste pojedinih područja ključna je prisutnost kompleksnoga mikrostaništa koje kornjače koriste ovisno o sezoni, spolu i dobi (SIDS i GASITH, 1985.).

Kao i u ostatku njena europskog areala, često se pojavljuju na istim lokacijama s barskom kornjačom (*Emys orbicularis*). Da bi inkubacija jaja bila uspješna, potrebna su područja s više vlažnih dana čemu najbolje odgovara najjužniji dio Hrvatske. Pare se od travnja do sredine lipnja, ovisno o podneblju. Parenje se odvija uglavnom pod vodom, iako je povremeno moguće i parenje na kopnu (RIFAI i AMR, 2004.). Pri parenju ženka može biti izložena ozbiljnim ugrizima mužjaka, osobito po glavi i vratu. Mužjaci u vrijeme parenja znaju biti međusobno agresivni (JELIĆ i sur., 2015.). Nakon parenja ženka traži povoljno mjesto s mekanom zemljom, koje ponekad zna biti poprilično udaljeno od vode, gdje kopa rupu u zemlji i polaže 4-6 jaja.

Jaja su duguljasta, dimenzija 25 x 38 mm, te se uspješno inkubiraju u uvjetima srednje do visoke vlage od 75-90%, na temperaturi od 27 °C do 30 °C pri čemu inkubacija traje 3 do 4 mjeseca. Nakon što se izlegnu mladi su dugi 2 – 3 cm, imaju dugi rep i okruglije oklopne linije od odraslih jedinki (RIFAI i AMR, 2004.).

#### 2.2.4. Način života

Riječne kornjače su vrlo plahe i oprezne životinje. Samo se preko noći udaljavaju od vode. Preko dana se zadržavaju u vodi ili se sunčaju na stijenama u njenoj neposrednoj blizini. U slučaju da uoče i najmanji znak opasnosti bježe u vodu i skrivaju se ispod vodenog bilja ili legnu na dno. Vrlo se dobro snalaze u vodi, ali i na tlu. Odlično plivaju i rone, ali su i vrlo hitre i okretne na čvrstom tlu. Zbog sasvim niskog leđnog štita oklopa mogu se vrlo brzo okrenuti na leđa. Mlade životinje preferiraju male rubne bazene većih voda ili plića područja s gušćom vegetacijom i vrlo muljevitim dnom gdje se brzo mogu skloniti u slučaju opasnosti. U područjima gdje je temperatura vode kroz godinu iznad granične temperature od 13 °C, riječne kornjače ne hiberniraju i hrane se čitave godine, dok u sjevernim dijelovima areala zimi hiberniraju i to u mulju ispod vode (ARNOLD i BURTON 1985.; ENGELMANN i sur., 1993.). U malim bazenima i tokovima koji ljeti presušuju kornjače za vrijeme suše estiviraju. Ponekad kornjače migriraju u druge vodene površine tijekom ljetne suše (RIFAI i AMR, 2004.). Na temperaturama većima od 36 °C, postoji velika vjerojatnost da se kornjače pregriju pa se u takvim slučajevima mogu vidjeti kako lebde tik ispod površine vode, samo povremeno pružajući glavu iznad vode, kako bi izbjegle pregrijavanje (RIFAI i AMR, 2004.).

### 2.2.5. Prehrana

Smatra se da odabir vrste hrane ovisi o njenoj dostupnosti unutar staništa u kojem kornjače borave (MANTZIOU i RIFAI, 2014.). Odrasle riječne kornjače su oportunistički omnivori, te se njihova prehrana sastoji od insekata i njihovih ličinki, člankonožaca, rakova, crva, punoglavaca, riba, ostataka ptica i strvina (SIDIS i GASITH 1985.; DISI 1998.; WISCHUF i BUSACK, 2001.). Međutim, veliki udio njihove prehrane uključuje i biljnu hranu koju čine alge, vodeno bilje, kopnene biljke i sjemenke. Prema nekim istraživanjima, smatra se da se odrasle jedinke u većem omjeru hrane isključivo biljnom hranom, za razliku od mladih životinja, koje se hrane isključivo malim rakovima, kolutićavcima, kukecima i njihovim ličinkama, kao i mekušcima, malim ribama, ličinkama vodozemaca i strvinama (RIFAI i AMR, 2006.). Riječne kornjače se obično ne hrane na temperaturama vode ispod 13 °C ili iznad 30,5 °C.

### 2.2.6. Status

Riječna kornjača je strogo zaštićena životinjska vrsta u Hrvatskoj prema Zakonu o zaštiti prirode (Narodne novine 70/05; 139/08; 57/11; 80/13). Nalazi se na Dodatku II i IV Direktive o zaštiti prirodnih staništa divlje faune i flore Europske unije (Direktiva o staništima) te na Dodatku II Konvencije o zaštiti europskih divljih vrsta i prirodnih staništa. Riječna kornjača je navedena u Nacionalnoj ekološkoj mreži kao ciljna vrsta za sljedeća ekološki značajna područja: Gornji Majkovi – lokve, Snježnica i Konavosko polje, Ljuta, lokva u Prljevićima, lokva u selu Podimoč, kanali u Stonskom polju (dva područja) i akumulacija Orašac (JELIĆ i sur., 2015.).

Na globalnoj razini, prema Međunarodnom savezu za očuvanje prirode (IUCN) riječne kornjače smatraju se slabo ugroženim (LC).

U Hrvatskoj su poznate tri populacije (Ston, Konavosko polje i Gornji Majkovi) na malim fragmentima međusobno izoliranih staništa u kojima ima oko petstotinjak odraslih jedinki.

S obzirom da su staništa ove kornjače u Hrvatskoj pod snažnim ljudskim utjecajem, riječne kornjače se smatraju najugroženijom vrstom gmazova na našim prostorima. Glavni

razlog ugroženosti je mijenjanje, uništavanje i snažna fragmentacija njihova staništa zbog urbanizacije, regulacijom vodotoka i neodržavanja vodenih staništa. Takav primjer štetne regulacije jesu kanali i tunel za odvod poplavnih voda u Konavoskom polju, čime se brzo odvodi velika količina vode, a tijekom ljeta dolazi do velikih suša i nedostatka vode. Također, ubrzani razvoj turističkih i ruralnih područja te sve više maslinika, vinograda i nasada povrća značajno su povećali potrebe za izvorima vode, što je dovelo do potpunog presušivanja izvora vode nužnih za život riječne kornjače (JELIĆ i sur., 2015.). Ljudskom djelatnošću mnoga su staništa pretvorena u poljoprivredna zemljišta i samim time zagađena velikim količinama pesticida. Pesticidi, a posebice fungicidi i herbicidi (na osnovi bakra) uzrokuju probleme u razvoju jaja, a također imaju i negativan utjecaj na biljne i životinjske vrste kojima se riječna kornjača hrani (JELIĆ, 2013.). Važan uzrok ugroženosti na području Stona je nenamjerno ubijanje kornjača korištenjem vrša za lov žaba i riba u kojima se one utapaju jer ostaju zarobljene pod vodom.. Taj mortalitet predstavlja veliki problem za životinje koje postižu spolnu zrelost tek nakon deset ili više godina. Riječna kornjača zbog svoje specifične ekologije, dosta vremena provodi na kopnu tražeći pogodna mjesta za polaganje jaja i hibernaciju. Shodno tome vrlo je osjetljiva na problem stradavanja na prometnicama. Nedorasle i mlade jedinke kao i jaja plijen su grabežljivaca kao što su mungosi i divlje svinje (JELIĆ i sur., 2015.).

### 2.3. Probavni sustav gmazova

Probavni sustav gmazova započinje usnom šupljinom i orofarinksom na koji se nastavljaju jednjak, želudac, tanko i deblo crijevo, te pomoćni organi jetra i gušterača. Većina gmazova u ustima ima zube, za razliku od kornjača koje imaju keratinizirani rožnati kljun koji nadvisuje koštane čeljusti (MCARTHUR i sur., 2004.).

Većina kornjača koja se hrani biljnom hranom ima niz tvrdih grebena za žvakanje na nepcu kako bi se omogućilo bolje gutanje hrane. Kornjače imaju vrlo jaku čeljust što im omogućava snažan ugriz (KING, 1996.). Jezik kornjača je velik i mesnat te nije pomičan, za razliku od zmija i guštera koji imaju mali i pomični jezik. Jezik kornjača je jako osjetljiv te se vrlo lako ošteti prilikom nepravilne manipulacije (MCARTHUR i sur., 2004.). Primarna funkcija jednjaka je transport hrane od usta do želuca, a želuca pohrana i probava hrane. Mehanička probava hrane uključuje mišićne kontrakcije trbuha u svih gmazova, a u mnogih vrsta je potpomognuta gastrolitima (kamenjem koje je pojedina životinja progutala). Kemijska

probava događa se u želucu pomoću želučanih kiselina. Probavne enzime proizvode želudac, tanka crijeva, gušterača, jetra i žučni mjehur. Tanko crijevo nalazi se u kaudalnoj trbušnoj šupljini, te nije jasno podijeljeno na duodenum, jejunum i ileum. Njegova zadaća je miješanje enzima iz gušterače i žučnog sustava te daljnje izlučivanje enzima s površinskog epitela (MCARTHUR i sur., 2004.). Jetra kornjača je velika i podijeljena u dva režnja, te se žučni mjehur može pronaći u desnom režnju (MCARTHUR i sur., 2004.). Jetra imaju ulogu u metabolizmu lipida, glikogena i proteina te stvaranju faktora zgrušavanja krvi. Ima vrlo važnu ulogu u pohrani masti i kao pričuva energije. Jetra je ključna u većini homeostatskih procesa, kao što je djelomična aktivacija vitamina D (kalcitriola). Gušteraču karakteriziraju dvije važne komponente – probavni enzimi i neutralizacija kiselog sadržaja crijeva (MCARTHUR i sur., 2004.). Kornjače koje se hrane isključivo biljnom hranom imaju široko debelo crijevo u kojem se odvija mikrobna digestija. Cekum može biti prisutan, ali čak ni u biljojeda nije dobro razvijen. Kloaka je podijeljena na urodeum, koprodeum i proktodeum. Urodeum leži dorzokranijalno i predstavlja otvor u uretru. Koprodeum se nalazi između urodeuma i proktodeuma, te se u muških kornjača na ventralnoj strani koprodeuma nalazi muški spolni organ. U proktodeum se slijeva sadržaj iz mjehura, urodeuma i koprodeuma, spolnih organa i uretre te sav sadržaj izlazi van (MCARTHUR i sur., 2004.). Kloaka kornjača ima važnu ulogu u interakciji mjehura i debeloga crijeva, omogućavajući recikliranje tekućine što je osobito važno u kornjača koje hiberniraju (MCARTHUR i sur., 2004.)

#### 2.4. Mikroflora probavnog sustava gmazova

Mikroflora probavnog sustava gmazova sastoji se od bakterija, gljivica i protozoa. Iako se u gmazova pojavljuju infekcije uzrokovane Gram pozitivnim i Gram negativnim bakterijama, čini se da su infekcije Gram negativnim bakterijama češće (JACOBSON, 1987.). U probavnom sustavu klinički zdravih gmazova može se naći veći broj mikroorganizama koji mogu izazvati infekcije ljudi ili samih gmazova pod nepovoljnim okolnostima.

COOPER, (1981). opisuje bakterije *Escherichia coli*, *Proteus* sp., *Aeromonas* sp. i *Pseudomonas* sp. kao uobičajene izolate iz crijeva i kloake gmazova. Neke od najčešćih bakterija izdvojenih iz gmazova su *Aeromonas* sp., *Citrobacter* sp., *Enterobacter* sp.,



*Escherichia* sp., *Morganella* sp., *Providencia* sp., *Pseudomonas* sp. i *Salmonella* sp. (MAYER i FRANK, 1974.; JACOBSON, 1984.).

Postoje značajni dokazi da se mikroorganizmi povezani s bolešću čovjeka, kao što su *Yersina enterocolitica*, *Candida albicans*, *Salmonella* sp., *Vibrio* sp. i *Cryptosporidium* sp. mogu naći u probavnom traktu klinički zdravih gmazova, zajedno sa flagelatima kao što je *Trichomonas* sp. (MCARTHUR i sur., 2004.)

*Salmonella* sp. jedna je od najčešće izdvojenih mikroorganizama u kornjača, osobito onih držanih u zatočeništvu (JACOBSON, 2007.). Prema jednom istraživanju provedenom u Njemačkoj *Salmonella* sp. je izdvojena iz 55 (44%) zdravih kornjača od njih ukupno 125 (WEBER i PIETSCH, 1974.).

U istraživanju koje su proveli DE JONG i sur., (2005.) dokazano je da su gmazovi prenosioci salmonele na ljude, pa je radi očuvanja zdravlja osoba koje dolaze u kontakt s gmazovima bitna edukacija i informiranost o prevenciji zaraze. Najčešće izolirana *Salmonella* sp. je *Salmonella arizonae* (JACOBSON, 2007.).

U kornjača se pokazalo da salmonela može prilikom polaganja jaja prodrijeti u jaje i na taj način zaraziti plod (FEELEY i TREGGER, 1969.). Infekcija *Salmonellom* transovarijalnim putem dokazana je i u zmija (CHIODINI 1982.; SCHROTER i sur., 2006.).

## 2.5. Bakterijske i gljivične bolesti kornjača

Većina bakterijskih infekcija uzrokovana je oportunističkim agensima koji se javljaju u imunokompromitiranih kornjača. Česta bolest kornjača je septikemijska kožna ulcerativna bolest uzrokovana Gram negativnom bakterijom *Citrobacter freundii*, iako su različite bakterije izdvojene s kože i ljsaka bolesnih kornjača. Simptomi bolesti su otpadanje ljski ispod kojih se vidi gnojni iscjedak, anoreksija, letargija te petehijalna krvarenja po oklopu (DIVERS, 2019.).

Infekciozni stomatistis često se javlja u kornjača. Uzrokovan je bakterijama *Aeromonas* sp. i *Pseudomonas* sp. koje su najčešće izolirane, ali se mogu pronaći još neke Gram pozitivne i Gram negativne bakterije. Bolesti zahvaća mandibulu i maksilu, a može doći i do infekcije dišnog sustava i gastrointestinalnog trakta (DIVERS, 2019.). U jednom

istraživanju provedenom na 17 kornjača iz Grčke, u njih 14 javio se nekrotični stomatitis (HOLT i sur., 1979).

U kornjača se često javljaju mikoplazmoze, uzrokovane varijacijom bakterija *Mycoplasma* sp. Mikoplazme uzrokuju rinitis i upalu gornjih dišnih putova kornjača. Posljedica bolesti je povećan mortalitet kornjača te je bolest često kroničnog tijeka (DIVERS, 2019.).

U kornjača se često javlja otitis uzrokovan bakterijama *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., *Citrobacter* sp., *Morganella morganii*, *Enterobacter* sp. i drugima. Očituje se otečenjem bubnjića te kazeoznim iscjetkom (DIVERS, 2019.).

Mikobakterije, točnije *Mycobacterium ulcerans*, *M. chelonae*, *M. haemophilum* i *M. marinum* često budu izolirane iz kornjača, uzrokujući upalu pluća (DIVERS, 2019.).

Salmonele se vrlo često mogu izolirati iz kornjača koje su klinički zdrave (DIVERS, 2019.). Smatra se da salmonele predstavljaju normalnu mikrofloru gastrointestinalnog trakta kornjača (JACOBSON, 2007.). Izlučivanje se može povećati tijekom stresa (kod bolesti primjerice).

U većini slučajeva kornjače zaražene salmonelom ne pokazuju nikakve kliničke znakove. (ONDERKA i FINLAYSON, 1985.). U nekim slučajevima kornjače zaražene *Salmonellom* mogu uginuti, tako je *Salmonella* bila uzročnik uginuća dviju galapagoskih kornjača (*Geochelone nigra*) u zoološkom vrtu u San Diegu (MCNEIL i HINSHAW, 1946.). Kornjače zaražene *Salmonellom* imaju sljedeće simptome: mršavljenje, opadanje ljuski s oklopa te bezbojan oklop (MCHARTUR i sur., 2004.).

Često se javljaju i kromomikoze uzrokovane gljivicama *Cladosporium herbarum*, *Phialophora* spp., *Hormodendrum* sp., *Curvularia* sp., *Fonsecaea* sp., *Rhinocladiella* sp., i *Drechslera* sp. (JEPSON, 2016.).

### 3. MATERIJALI I METODE

U svrhu istraživanja zdravstvenog stanja riječnih kornjača uzeti su obrisci usne šupljine i kloake od šest životinja smještenih u karantenskom prostoru Ustanove Zoološki vrt grada Zagreba nakon zapljene na granici. Kornjačama nije utvrđeno podrijetlo.



Slika 2. Materijal korišten pri uzrokovanju životinja

#### 3.1. Klinička pretraga životinja

Nakon manuelnog sputavanja životinje su klinički pregledane inspekcijom i palpacijom vidljivih dijelova tijela na eventualne promjene i mehaničke ozlijede. Sve su životinje izvagane i izmjerene pomičnom mjerkom (Slika 3. i 4.), te je određen spol, ako je to bilo moguće.



Slika 3. Vaganje kornjače



Slika 4. Mjerenje kornjače

### 3.2. Uzimanje obrisaka usne šupljine i kloake

Brisevi usne šupljine uzeti su sterilnim obriskom bez transportnog medija, na način da je jedna osoba rukom pridržavala kornjaču fiksirajući joj glavu, i pomoću sterilnog peana otvarala usta, dok je druga osoba rotirajućim pokretom sterilnog obriska uzimala uzorak za analizu (Slika 5.).



Slika 5. Uzimanje obriska usne šupljine

Brisevi kloake su uzeti na način da je jedna osoba držala kornjaču u horizontalnom položaju dok je druga sterilnim obriskom uzimala uzorak (Slika 6.).



Slika 6. Uzimanje uzoraka kloake

### 3.3. Laboratorijska pretraga uzoraka

#### 3.3.1. Standardna mikrobiološka pretraga

Nakon što su u Zoološkom vrtu grada Zagreba uzeti obrisci usne šupljine i kloake šest kornjača, isti su dopremljeni u laboratoriji Zavoda za bolesti peradi s klinikom Veterinarskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Obrisci usne šupljine i kloake naciepljeni su na neutralnu (Difco Nutrient Agar, Becton, Dickinson and Company, SAD) i selektivnu krutu hranjivu podlogu (Brilliant green agar-modified, Oxoid, Velika Britanija) te su inkubirani u aerobnim uvjetima na temperaturi od 37 °C kroz 24 sata.

Daljnja identifikacija naraslih pojedinačnih kolonija rađena je pomoću sljedećih metoda: reakcije katalaze i oksidaze te API biokemijskim testovima. Reakcija katalaze je dokazivana na način da je uzeta bakterijska kolonija pomoću eze te je prenesena na predmetnicu. Zatim je dodana 1 kap 30%-tne otopine vodikova peroksida (Vodikov peroksid, Kemika, Hrvatska). Dokaz pozitivne reakcije su oslobođeni mjehurići kisika vidljivi kao pjenušanje. Za dokaz oksidaze korištene su trakice koje sadrže filtarski papir sa N;N-dimetil-fenilen-diamonijum kloridom (Oxidaes strips, Oxoid, Velika Britanija). Bakterijske kolonije su pomoću eze prenesene na filtarski papir kako bi se dokazala reakcija. Nakon nekoliko sekundi reakcija je očitana, koja je bila pozitivna u slučaju kada je papir promjenio boju u tamnoplavu, a negativna kada papir nije promjenio boju.

Za završnu identifikaciju bakterija korišteni su API biokemijski testovi (API 20 E, API 20 NE, i API Staph System, Bio Merieux S.A., Francuska), prema uputama proizvođača.

### 3.3.2. Dokaz bakterija roda *Salmonella* sp. iz obrisaka kloake

Za dokaz bakterija *Salmonella* sp., svi uzorci kloake dodatno su oplemenjeni Selenite bujon tekućim agarom (Selenite bujon, Becton, Dickison and Company, SAD), u omjeru 1:9. Potom su inkubirani 24h pri temperaturi od 37 °C. Nakon inkubacije uzorci su presađivani na briljant zeleni agar (Brilliant green agar-modified (Oxoid, Velika Britanija) i ksiloza-lizin deoksikolatni agar (Xylozine lysine deoxycholate agar, Oxoid, Njemačka) te inkubirani 24-48 sati pri sobnoj temperaturi. Nakon inkubaciji, podloge su očitavane, a sumnjive kolonije su presađivane na trostruki šećer agar (Triple sugar iron agar, Biomerieux, Francuska) da bi se omogućila aglutinacija pojedinačnih kolonija specifičnim antiserumima za dokaz salmonele (Antiserum Salmonella, Bio-Rad, Francuska).

### 3.3.3. Dokaz bakterija roda *Campylobacter* sp. iz obrisaka kloake

Za dokaz bakterija *Campylobacter* sp. iz obrisaka kloake, uzorci su nasadivani na mCCDA (Modified CCDA-preston agar, Oxoid, Velika Britanija) krutu hranjivu podlogu. Uzorci su potom inkubirani u mikroaerofilnim uvjetima pri temperaturi od 37 °C unutar 48 sati. Podloge su očitavane nakon inkubacije na prisustvo sumnjivih kolonija.

### 3.3.4. Identifikacija gljivica

Za identifikaciju gljivica u usnoj šupljini i kloaci životinja, uzorci su nasadjeni na Sabouraud hranjivu podlogu (Difco Sabourad dextrose agar, Dickinson and Company, SAD), te su inkubirani pri sobnoj temperaturi u aerobnim uvjetima 5 dana. Gljivice su identificirane na temelju morfoloških karakteristika, a potom i mikroskopski uz dodatak laktofenola (Lactophenol blue solution, Sigma-Aldrich, Francuska) na predmetnom stakalcu.

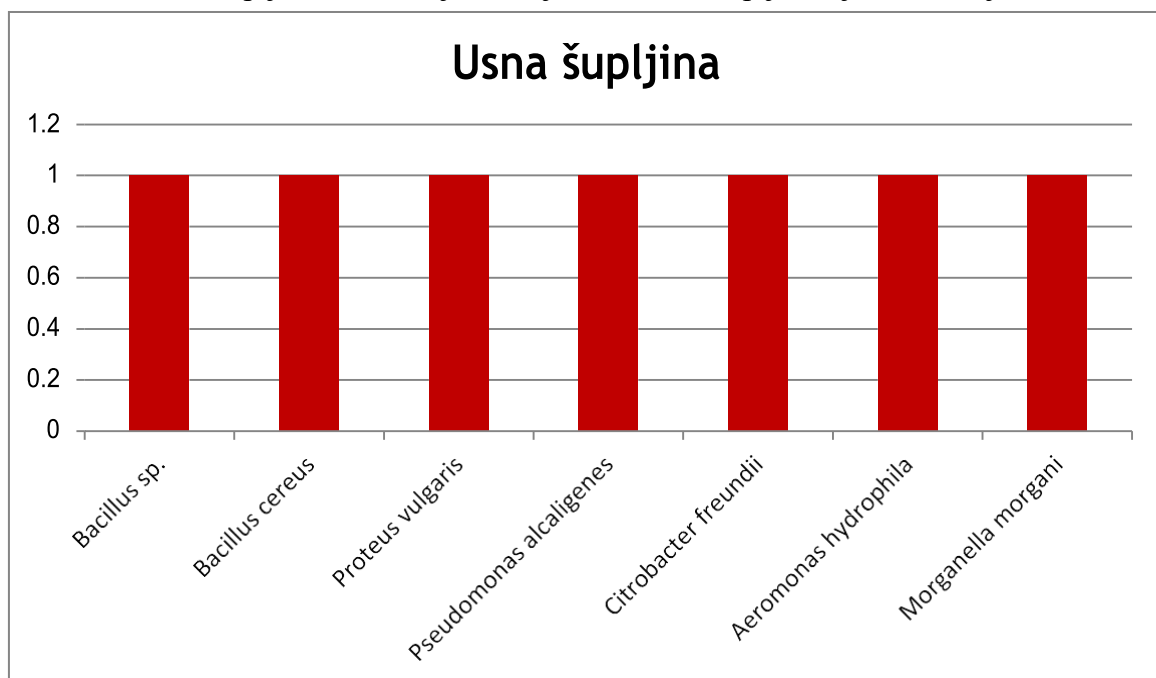
## 4. REZULTATI

### 4.1. Rezultati bakteriološke pretrage

Iz obrisaka usne šupljine riječnih kornjača izdvojeno je ukupno sedam različitih vrsta bakterija, od toga dvije vrste Gram pozitivnih (*Bacillus* sp., *Bacillus cereus*) te pet vrsta Gram negativnih (*Proteus vulgaris*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Citrobacter freundii*, *Aeromonas hydrophila*, *Morganella morgani*).

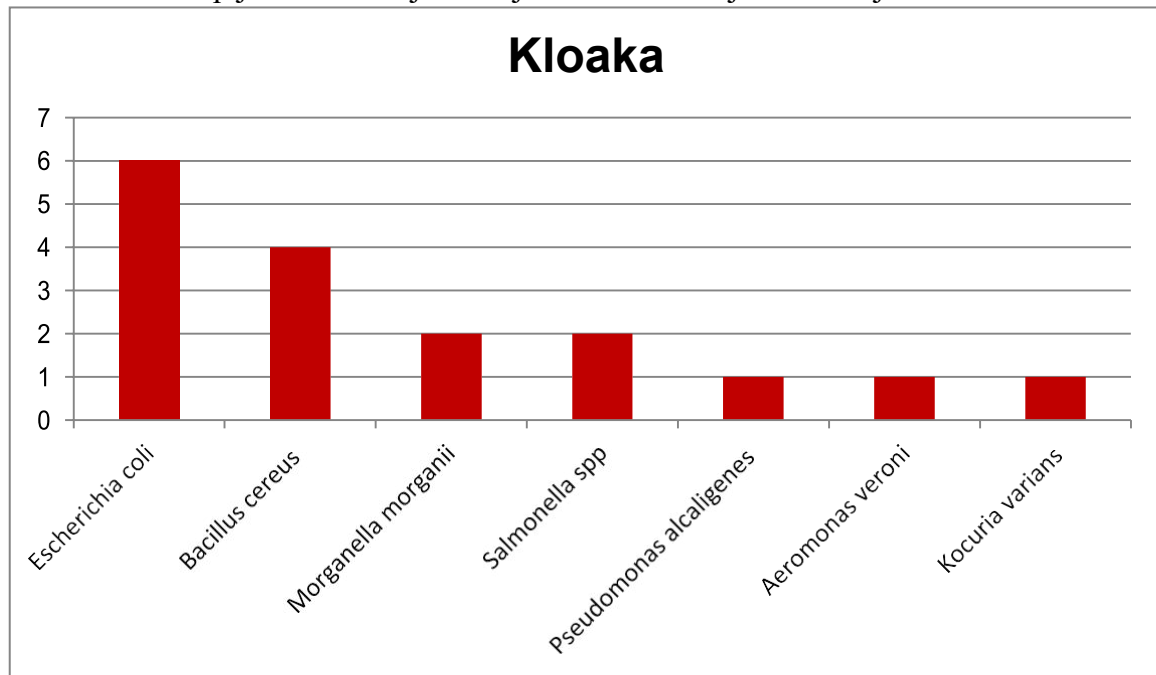
U postocima svaka navedena bakterija zastupljena je s 14,28 % (Tablica 1.).

Tablica 1. Zastupljenost bakterija izdvojenih iz usne šupljine riječnih kornjača



Iz obrisaka kloake 6 riječnih kornjača izdvojeno je 8 različitih vrsta bakterija, pet Gram negativnih (*E. coli*, *Salmonella* sp., *Pseudomonas alcaligenes*, *Aeromonas veronii*, *Aeromonas hydrophila* i *Morganella morgani*) i dvije Gram pozitivne (*Bacillus cereus*, *Kocuria varians*).

Tablica 2. Zastupljenost bakterija izdvojenih iz kloake riječnih kornjača



Najzastupljenija vrsta bakterija u kloaci bila je *E. coli* je s 35,3%. Bakterija *B. cereus* izdvojena je u 23,54% slučajeva, *M. morganii* u 11,76% i *Salmonella sp.* u 11,76% slučajeva. Bakterije *P. alcaligenes*, *A. veroni* i *K. varians* imale su jednak udio zastupljenosti s 5,88% (Tablica 2.).



## 4.2. Rezultati mikološke pretrage

Iz usne šupljine riječnih kornjača nije izdvojena niti jedna gljivica. Iz kloake kornjača izdvojena je samo jedna gljivica i to *Aspergillus fumigatus* u dvije kornjače (Tablica 3.).

Tablica 3. Zastupljenost gljivica izdvojenih iz kloake riječnih kornjača



## 5. RASPRAVA

Riječne kornjače (*M. rivulata*) spadaju u jednu od najugroženijih skupina gmazova u Hrvatskoj (JELIĆ i sur., 2015.). Njihova ugroženost posljedica je nagle urbanizacije, degradacije i fragmentacije staništa (JELIĆ i sur., 2015.). Obzirom da o zdravstvenom stanju i mikroorganizmima koji naseljavaju probavni sustav ovih kornjača ima vrlo malo podataka, svrha ovog istraživanja bila je detaljnije upoznavanje s fiziološkom mikroflorom, kao i potencijalnim i pravim patogenima koji mogu ugroziti zdravlje samih životinja, ali i ljudi koji s njima manipuliraju.

Nakon uzorkovanja usne šupljine i kloake kornjača i izolacije uzoraka, pronađene su različite Gram pozitivne i Gram negativne bakterije, te samo jedna vrsta gljivica. Izdvojeno je ukupno 11 različitih bakterija među kojima je prevladavala Gram negativna flora.

Iz usne šupljine izdvojeno je pet Gram negativnih bakterija (*C. freundii*, *A. hydrophila*, *M. morgani*, *P. vulgaris*, *P. alcaligenes*) te dvije Gram pozitivne bakterije (*Bacillus cereus* i *Bacillus* sp.). Iz kloake riječnih kornjača izdvojeno je šest Gram negativnih bakterija (*P. alcaligenes*, *A. hydrophila*, *M. morgani*, *E. coli*, *Salmonella* sp., *A. veronii*) te dvije Gram pozitivne bakterije (*Bacillus cereus* i *Kocuria varians*). Sve Gram pozitivne i Gram negativne bakterije već su u dosadašnjim istraživanjima opisivane kao normalni izolati probavnog sustava gmazova.

Bakterije roda *Pseudomonas* sp. vrlo su proširene u prirodi, mogu se naći u tlu, slatkoj ili slanoj vodi i različitom organskom materijalu (NAGLIĆ i sur., 2005.). Do sada ima vrlo malo izvještaja o pseudomonasnim infekcijama u kornjača (DIETERICH, 1967.; JACOBSON, 1978.; KEYMER, 1978.). U provedenom istraživanju izolirali smo *P. alcaligenes* iz kloake i usne šupljine jedne kornjače, a s obzirom da se *P. alcaligenes* nalazi u vodi takav nalaz nije iznenađujući.

Bakterije roda *Aeromonas* sp. patogene su za sve skupine gmazova (IPPEN i SCHRODER, 1977.). Smatraju se oportunističkim organizmima (JACOBSON, 2007.). Proširene su u slatkim i otpadnim vodama te u tlu (NAGLIĆ i sur., 2005.). GORDEN i sur., (1979.) potvrđuju da *A. hydrophyla* pronađen u unutarnjim organima gmazova u kombinaciji s viskom temperaturom i stresom može omogućiti razmnožavanje bakterija, te dovesti do različitih bolesti. U gmazova inficiranih bakterijama *Aeromonas* sp. često se javlja

septikemija s posljedičnim multifokalnim područjima ekhimateoznih krvarenja i ulceracija, zatim anoreksija, slabost te opadanje kondicije (JACOBSON, 2007.). *Aeromonas* sp. se povezuje s ulcerativnim stomatitisom u raznih vrsta zmija (PAGE, 1961., 1966.). Kao što je slučaj kod *Pseudomonas* sp., tako i kod *Aeromonas* sp. gmazovi mogu aspirirati nekrotični debris iz usne šupljine u respiratorni sustav što može dovesti do upale pluća (JACOBSON, 2007.). U provedenom istraživanju bakterije roda *Aeromonas* sp. u većem su broju izolirane iz kloake riječnih kornjača, i to *A. hydrophila* i *A. veronii*, međutim u njih nisu izazvale nikakve bolesti.

U ovom istraživanju najviše izdvojenih bakterija iz usne šupljine i kloake pripada porodici *Enterobacteriaceae*. Porodicu *Enterobacteriaceae* čine Gram negativne bakterije, koje su vrlo raširene u prirodi. Tako se mogu naći u tlu, vodi, na biljkama, pa i u zraku. Veliki broj pripadnika te porodice dio su crijevne mikroflore gmazova (NAGLIĆ i sur., 2005.). Izolirane bakterije iz ove porodice su *E. coli*, *M. morgani*, *Salmonella* sp., *C. freundii* i *P. vulgaris*.

*E. coli* je jedina bakterija izolirana iz kloake svih šest kornjača. *E. coli* je dio normalne crijevne mikroflore ljudi i životinja. Nalazi se u okolišu životinja, pa ju životinje svakodnevno primaju hranom i vodom (NAGLIĆ i sur., 2005.). *E. coli* se pojačano javlja prilikom stresa, uzrokovanog promjenom temperature, hrane ili transporta. Uobičajeni je izolat iz kloake riječnih kornjača što je potvrđeno i našim istraživanjem.

*C. freundii*, *M. morgani* i *P. vulgaris* su oportunističke (uvjetno patogene) bakterije, koje uzrokuju patološke promjene samo uz pogodovne uvjete, primjerice, kad općenito oslabi otpornost organizma, pri oštećenjima tkiva, pogreškama u hranidbi ili liječenju te sličnim okolnostima (NAGLIĆ i sur., 2005.). Mogu se naći u tlu, otpadnim vodama i hrani te u izmetima ljudi i različitih vrsta sisavaca, ptica, gmazova i vodozemaca (NAGLIĆ i sur., 2005.).

Najviše *C. freundii* bakterija u gmazova izdvojeno je upravo iz kornjača (JACOBSON, 2007.). *Citrobacter* je uzročnik septične kožne ulcerativne bolesti (SCUD) barskih kornjača (KAPLAN, 1957.). Smatra se da je bolest povezana s načinom na koji se postupa s kornjačama, a predispozicijski uvjeti za nastanak bolesti uključuju lošu prehranu, te boravak životinja u ustajaloj, prljavoj vodi (JACOBSON, 2007.). Kornjače zahvaćene ovom bolešću postaju letargične sa smanjenim tonusom mišića, paralizom udova i nekrozom stopala, krvarenjem te kožnim ulceracijama (JACOBSON, 1981.).

*Salmonella* sp. zbog velikog broja serotipova predstavlja jednu od najvažnijih zoonoza kornjača u zatočeništvu (JACOBSON, 2017.) Uzrokuju promjene u želučano-crijevnom sustavu životinja (NAGLIĆ i sur., 2005.), a smatra se djelom normalne gastrointestinalne flore gmazova (HINSHAW i MCNEIL., 1947; JACKSON i JACKSON, 1971; KAURA i SINGHK, 1968.; MCINNES 1971; MCNEIL. i DORWARD, 1986; ONDERKA i FINLAYSO, 1985). Tako je *Salmonella* sp. izolirana iz divljih kornjača rodova *Rhinoclemmys* (10%) i *Mauremys* (16%) (GOPEE i sur., 2000; GREENBERG i SECHTER, 1992). Iako je infekcija salmonelom u kornjača česta, kod njih se u pravilu ne pojavljuju znakovi bolesti (JACOBSON, 2007.). To potvrđuje i naše istraživanje, iako je *Salmonella* sp. izolirana iz kloake dviju kornjača, nije u njih izazvala nikakva oboljenja.

Gram pozitivne bakterije u provedenom istraživanju izolirane su u manjem broju od Gram negativnih bakterija. Gram pozitivne bakterije se fiziološki mogu naći u probavnom sustavu gmazova i ljudi (NAGLIĆ i sur., 2005.).

Bakterije roda *Bacillus* sp. vrlo su proširene u prirodi i tipični su predstavnici bakterijske flore tla i vode (NAGLIĆ i sur., 2005.). *B. cereus* je oportunistički patogen za ljude. Može se naći u velikom broju namirnica, te kod ljudi izazvati proljev posljedično konzumiranju otrovane hrane (NFOR i sur., 2015.). U istraživanju koje su proveli NFOR i sur. 2015. izolirano je sedam grupa *B. cereusa* iz fekalnog materijala šumskih kornjača (*Glyptemys insculpta*).

*Kocuria* sp. je gram pozitivna bakterija iz porodice *Micrococcaceae*. *Kocuria* sp. predstavlja normalnu mikrofloru kože i sluznica ljudi i životinja (KANDI i sur., 2016.). U kornjača *K. varians* je izdvojena iz konjuktivalne vrećice (DI IANNI i sur., 2015.).

Gljivice u kornjača redovito se javljaju u onih jedinki koje žive u skupinama te kod mladih vodenih vrsta kornjača zbog slabije razvijenog imunološkog sustava i loše kvalitete vode (JACOBSON i sur., 1979.; JACOBSON i sur., 2000.; LAFORTUNE i sur., 2005.; LAPPIN i DUNSTAN, 1992.).

Gljivice *Aspergillus* sp. raširene su u prirodi i u velikom se broju nalaze u tlu, vodi i zraku te su redovito prisutne na koži i sluznicama čovjeka i životinja (NAGLIĆ i sur., 2005.). *A. fumigatus* spada u uvjetno patogene gljivice (NAGLIĆ i sur., 2005.). U našem smo istraživanju izolirali gljivice u dvije kornjače, ali nismo primjetili kliničke promjene koje bi one izazvale.

Iz provedenog istraživanja možemo zaključiti da su kornjače vrste *M. rivulata* nosioci Gram pozitivnih i Gram negativnih bakterija, s prevagom Gram negativnih bakterija. Sve navedene bakterije i jedina izolirana gljivica pripadaju ubikvitarnim mikroorganizmima, te ih se može pronaći u probavnom sustavu kornjača i u okruženju u kojem one borave. Obzirom da su sve izdvojene bakterije oportunistički patogeni, postoji mogućnost infekcije ovim bakterijama, osobito u imunokompromitiranih životinja. Također, sve izolirane bakterije mogu biti oportunistički patogene i za ljude, stoga treba oprezno manipulirati ovim životinjama, pri kliničkom pregledu i liječenju.

## 6. ZAKLJUČCI

1. Mikroflora probavnog sustava riječnih kornjača *M. rivulata* smještenih u karantenskom djelu Zoološkoga vrta Grada Zagreba sastoji se od mješovite kulture Gram pozitivnih i Gram negativnih bakterija, s time da prevladavaju Gram negativne bakterije.
2. Bakterije izolirane iz usne šupljine i kloake kornjača pripadaju ubikvitarnim mikroorganizmima koji se normalno mogu naći u okolišu u kojem žive poluvodene kornjače.
3. S obzirom da su izolirane bakterije oportunistički patogeni za gmazove i ljude, moguća je infekcija u imunokompromitiranih gmazova i ljudi.
4. Pronalazak *E. coli* u kloaci svih šest kornjača je normalan nalaz s obzirom da je *E. coli* sastavni dio njihovoga gastrointestinalnoga sustava.
5. Neophodno je nastaviti s daljnjim istraživanjem na većem broju životinja kako bi se dobio što detaljniji uvid u mikrofloru probavnog sustava ove vrste kornjača. .

## 7. LITERATURA

1. ABD RABOU, A., M. YASSIN, M. AL-GHA, D. HAMAD, A. ALI (2007): The herpetofauna of the Gaza Strip with particular emphasis on the vicinity of Wadi Gaza. The Islamic University Journal (Series of Natural Studies and Engineering) 15.(1), 111–135.
2. AL-QURAN, S. (2009): The Herpetofauna of the Southern Jordan. American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci., 6 (4), 385–391.
3. ANONIMUS: *Geomydidae*, <https://en.wikipedia.org/wiki/Geomydidae>. Preuzeto 21. ožujka 2019.
4. ANONIMUS: Zakon o zaštiti prirode (Narodne novine 70/05; 139/08; 57/11; 80/13)
5. ARNOLD, E.N., J.A. BURTON (1985): A Field Guide to the Reptiles and Amphibians of Britain and Europe. Collins, Grafton Street, London, str. 272.
6. AYZAZ, D., A. BUDAK (2008): Distribution and morphology of *Mauremys rivulata* (Valenciennes, 1833) (Reptilia: Testudines: *Geomydidae*) in the Lake District and Mediterranean Region of Turkey. Turk. J. Zool. 32 (2), 137–145.
7. BELLAIRS, A. (1969): The life of reptiles. Vol 2. London. Weidenfeld and Nicolson. Growth, age and regeneration, str. 458–488.
8. BOYER, T. H., D. M. BOYER (1996): Turtles, tortoises and terrapins. U: D. R. MADER (ed.), Reptile medicine and surgery. Philadelphia, WB Saunders, str. 61–78.
9. CHIODINI, R. (1982): Transovarian passage, visceral distribution and pathogenicity of *Salmonella* in snakes. Infect Immun 36, 710–713.
10. COOPER, J. E. (1981): Bacteria. U: Diseases of the Reptilia. COOPER, J.E., JACKSON, O.F. (ed.), Academic Press, London, str. 165-191.

11. DE JONG, B., Y. ANDERSSON, K. EKDAHL (2005): Effect of regulation and education on reptile-associated Salmonellosis. *Emerg. Infect. Di* 11, 398–403.
12. DI IANNI, F., C. S. CABASSI, I. PELIZZONE, A. SALA, S. CAVIRANI, E. PARMIGIANI, F. QUINTAVALLA, S. TADDEI (2015): Conjunctival flora of clinically normal and diseased turtles and tortoises. *BMC Vet Res*, 11.
13. DIETERICH, R. A. (1967): What's wrong with your turtle? *Int Turtle Tortoise Soc* 1, 20–21.
14. DISI, A. M. (1998): Morphometrics, distribution and ecology of chelonians in Jordan (Reptilia: *Testudines*). *Faunistische Abhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde Dresden* 21/ Suppl. 5, 31–41.
15. DIVERS, S.J. (2019): Bacterial Diseases of Reptiles.\_  
<https://www.msddvetmanual.com/exotic-and-laboratory-animals/reptiles/bacterial-diseases-of-reptiles> Preuzeto 11. svibnja 2019.
16. ENGELMAN, W.E., J. FRITSCHKE, R. GUNTHER, F. J. OBST (1993): *Lurche und Kriechtiere Europas*. Neumann Verlag Radebeul, str. 440.
17. EVANS, H. E. (1986): Reptiles–Introduction and anatomy. FOELER, M.E. (ed.), *Zoo and wild animal medicine*, 2nd ed., Philadelphia, WB Saunders., str. 108–132.
18. FEELEY, J.C., M. D. TREGGER (1969): Penetration of turtle eggs by *Salmonella* braenderup. *Public Health Rep.* 84, 156–158.
19. FRITZ, U., T. WISCHUF (1997): Zur Systematik west-asiatisch-südosteuropäischer Bachschildkröten (Gattung *Mauremys*) (Reptilia: *Testudines*: Bataguridae). *Zool. Abh. Staatl. Mus. Tierk. Dresden* 49 (13), 223–260.
20. GIRLING S. J., P. RAITI (2004): *BSAVA Manual of Reptiles*, 2nd ed.;; Gastrointestinal system (Mcarthur, S., L. Mclellan, S. Brown), str.. 210-213.



21. GOPEE, N.V., A. A. ADESYUN, K. CAESAR (2000): Retrospective and longitudinal study of salmonellosis in captive wildlife in Trinidad. *J. Wildl. Dis.* 36, 284–293.
22. GORDEN, R.W., T. C. HAZEN, G. W. ESCH, C. B. FLIERMANS (1979): Isolation of *Aeromonas hydrophila* from the American alligator, *Alligator mississippiensis*. *J. Wildl. Dis.* 15, 239–243.
23. GREENBERG, Z., I. SECHTER (1992.): *Salmonella* serotypes isolated from snakes and other reptiles—Israel, (1953–1989). *Isr. J. Vet. Med.* 47, 49–60.
24. GREGORY, P. T. (1982): Reptilian hibernation. In C. Gans (ed.), *Biology of the reptilia*. Vol. 13, *Physiology D*. London, Academic Press, str. 53–140.
25. HINSHAW, W. R., E. MCNAIL (1947): Lizards as carriers of *Salmonella* and paracolon bacteria. *J. Bacteriol.* 53, 458–464.
26. HOFFSTETTER, R., J. P. GASC (1970): Vertebrae and ribs of modern reptiles. In C. Gans (ed.), *Biology of the reptilia*. Vol. 1, *Morphology A*. London: Academic Press, str. 201–302.
27. HOLT, P.E., J. E. COOPER, J. R. NEEDHAM (1979): Diseases of tortoises: a review of seventy cases. *J. Small Anim. Pract.* 20, 269–286.
28. IPPEN, R., H. D. SCHRODER (1977): Zu den Erkrankungen der Reptilien. 9th Internationalen Symposiums uber die Erkrankung in der Zootiere, Akademie der Wissenschaften der DDR, Berlin.
29. IUCN (2013): Uncertain future of the Balkan Terrapian: <https://www.iucn.org/content/uncertain-future-balkan-terrapin> Preuzeto 20. ožujka 2019.
30. JACKSON, C.G., M. M. JACKSON (1971): The frequency of *Salmonella* and *Arizonae* microorganisms in zoo turtles. *J. Wildl. Dis.* 7, 130–132.

31. JACOBSON, E.R. (1978):. Diseases of the respiratory system of reptiles. *Vet. Med. Small Anim. Clin.* 73, 1169–1175
32. JACOBSON, E.R., GASHIN, J.M., SHIELDS, R.P. i WHITW, F.H. (1979): Mycotic pneumonia in mariculture-raised green sea turtles. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 175, 929–933.
33. JACOBSON, E.R. (1981): Diseases of reptiles. Diseases of the respiratory system of reptiles. *Vet. Med. Small Anim. Clin.* 73, 1169–1175.
34. JACOBSON, E.R. (1984): Biology and diseases of reptiles. U:., *Laboratory Animal Medicine.* (Fox J.G., B. Cohen, F. Lowe). Eds., Academic Press, New York, str. 449–476.
35. JACOBSON, E.R. (1987): Reptiles, in *The Veterinary Clinics of North America.* (Harknes J.). Ed., Saunders, Philadelphia, PA, str. 1203–1225.
36. JACOBSON E.R., J. L. CHEATWOOD, L. K. MAXWELL (2000): Mycotic diseases of reptiles. *Semin. Avian. Exot. Pet. Med.* 9, 94–101.
37. JACOBSON, E.R. (2007): Infectious diseases and pathology of Reptiles: color Atlas and textbook. *Bacterial Diseases of Reptiles* (Jacobson, E.R.). CRC Press,. 461-487.
38. JELIĆ, D., M. KULJERIĆ, T. KOREN, D. TREER, D. ŠALAMON, M. LONČAR, M. PONDAR-LEŠIĆ, B. JANEV HUTINEC, T. BOGDANOVIĆ, S. MEKINIĆ, K. JELIĆ (2015): *Crvena knjiga vodozemaca i gmazova Hrvatske.* Ministarstvo zaštite okoliša i prirode, Zagreb, Uvod, str. 10-44, 123-130.
39. JELIĆ, D. (2013): Nacionalni program za praćenje stanja očuvanosti vrsta u Hrvatskoj. Državni zavod za zaštitu prirode
40. JEPSON, L. (2016): *Exotic animal medicine. A quick reference guide.* 2sc ed., Origin Vets Veterinary Referral & Consultancy Service for Zoo, Avian, Aquatic and Unusual Pets, Wales, UK., str. 425-474.

41. KANDI, V., P. PALANGE, R. VAISH, A. B. BHATTI, V. KALE, R. KANDI, M. R. BHOOMAGIRI (2016): Emerging Bacterial Infection. Identification and Clinical Significance of *Kocuria* sp.. *Cureus* 8, 731.
42. KAPLAN, H.M. (1957): Septicemic, cutaneous ulcerative disease of turtles. *Proc Anim Care Panel* 7, 273–277.
43. KAURA, Y. K., P. SINGH (1968): Prevalence of *Salmonella* in some common wall lizards, birds and rodents. *Indian J Med Res* 56, 1174–1179.
44. KEYMER, I. F. (1978): Diseases of chelonians. Necropsy survey of tortoises. *Vet Rec.* 103, 548–552.
45. KING, G. (1996): Reptiles and herbivory. London: Chapman & Hall. Turtles and tortoises, str. 47–60.
46. KOREN, T., D. ŠALAMON (2009): Comparison of morphometry and algal growth of carapaces of two isolated *Mauremys rivulata* populations from two different types of habitat. Proceedings of the 15th European congress of herpetology, Kusadasi, Aydin, Turkey.
47. LAFORTUNE, M., J. F. X. WELLEHAN, S. P. TERRELL, E. R. JACOBSON, D. HEARD, J. E. KIMBROUGH (2005): Shell and systemic hyalohyphomycosis in Fly River turtles (*Carettochelys insculpta*) caused by *Paecilomyces lilacinus*. *J. Herpetol. Med. Surg.* 15, 5–19.
48. LAPPIN, P.B., R. W. DUNSTAN (1992): Difficult dermatologic diagnosis. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 200, 785–786.
49. MACNEIL, A.C., W. J. DORWARD (1986): *Salmonella* prevalence in a captive population of herptiles. *J. Zoo Anim. Med.* 216, 540–542.
50. MANTZIOU, G. (2006): Phylogeography and population genetics of *Mauremys rivulata* (Chelonia: *Geoemydidae*). Ph.D. Thesis, University of Crete.

51. MANTZIOU, G., L. RIFAI (2014): *Mauremys rivulata* (Valenciennes in Bory de Saint-Vincent 1833), Western Caspian Turtle, Balkan Terrapin [http://www.iucntftsg.org/wpcontent/uploads/file/Accounts/crm\\_5\\_080\\_rivulata\\_v1\\_2\\_014.pdf](http://www.iucntftsg.org/wpcontent/uploads/file/Accounts/crm_5_080_rivulata_v1_2_014.pdf) Preuzeto 20. ožujka 2019.
52. MAYER, H., W. FRANK (1974): Bakteriologische Untersuchungen bei Reptilien und Amphibien. Zentralblatt für Bakteriologie und Hygiene. I Abteilung Originale A229, 470–481.
53. MCINNES, H.M. (1971): *Salmonella saintpaul* infection of sheep with lizards as possible reservoirs. NZ Vet J 19, 163–164.
54. MCNEIL, E., W. R. HINSHAW (1946): *Salmonella* from Galapagos turtles, a Gila monster, and an iguana. J Vet Res 7, 62–63.
55. NAGLIĆ T., D. HAJSIG J. MADIĆ, LJ. PINTER (2005): Veterinarska mikrobiologija: specijalnja bakteriologija i mikologija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatsko mikrobiološko društvo, Zagreb, str. 43-45, 53-55, 56-71, 173-179, 283-286
56. NFOR, N.N., C.N. LAPIN, R. W. MCLAUGHLIN (2015): Isolation of *Bacillus cereus* group from fecal material of endangered Wood turtles. Curr Microbiol. 71(4), 524-7.
57. O'MALLEY, B. (2005.): Clinical anatomy and physiology of exotic species. Chapter 3-Tortoises and turtles. Elsevier Saunders, Philadelphia, USA, str. 41-55.
58. ONDERKA, D.K., M. C. FINLAYSON (1985): *Salmonellae* and salmonellosis in captive reptiles. Can. J. Com. Med. 49, 268–270.
59. PAGE, L. A. 1961. Experimental ulcerative stomatitis in king snakes. Cornell Vet. 51, 258-66.

60. PAGE, L. A. (1966): Diseases and infections of snakes: A review. Bull pneumonia in mariculture-raised green sea turtles. J Am Vet Med Assoc 175, 929–933.
61. POUGH, F. H., R. M. ANDREW, J. E. CADLE i sur. (1998): Herpetology. Englewood Cliffs, N.J: Prentice Hall. Reproduction and life, str. 75–133.
62. POUGH, F. H., C. M. JANIS, J. B. HEISERH (2002): Vertebrate life. 6th ed., Englewood Cliffs, N.J. Prentice Hall Turtles, str. 270–294.
63. RIFAI, L., Z. S. AMR (2004.): Morphometrics and biology of the Stripe-necked Terrapin, *Mauremys rivulata* (Valenciennes, 1833), in Jordan (Reptilia: *Testudines: Geoemydidae*). Zoologische Abhandlungen (Dresden) 54, 177–197.
64. SCHROTER, M., A. SPEICHER, J. HOFMANN, P. ROGGENTIN (2006): Analysis of the transmission of *Salmonella* sp. through generations of pet snakes. Environ Microbiol 8, 556–559.
65. SIDS, I., A. GASITH (1985) Food habits of the Caspian terrapin (*Mauremys caspica rivulata*) in unpolluted and polluted habitats in Israel. Journal of Herpetology 19, 108–115.
66. SIEBENROCK, F. (1913): Schildkröten aus Syrien und Mesopotamien. Ann. Naturhist. Mus. Wien 27, 171–225.
67. TOK, C. V. (1999): The Taxonomy and Ecology of *Mauremys caspica rivulata* Valenciennes, 1833 (Testudinata: *Bataguridae*) and *Testudo graeca* iberica Pallas, 1811 (Testudinata: *Testudinidae*) on Resadiye (Datça) Peninsula. Tr. J. of Zoology 23, str. 17–21.
68. WEBER, A., O. PIETSCH (1974): Aein Beitrag zum Vorkommen von Salmonellen bei Landschildkroten aus Zoohandlungen und Privathaushalten. Berliner und Munchener tierarztliche Wochenschrift 87., 257–259.

69. WISCHUF, T., S. D. BUSACK (2001.): *Mauremys rivulata* (Valenciennes in Bory de Saint-Vincent et al., 1833.). Ostmediterrane Bachschildkröte. U: Fritz, U. (Ed.). Handbuch der Reptilien und Amphibien Europas. Schildkröten (Testudines) I, str. 35–41.
70. ZANGERL, R. (1970): The turtle shell. U: C. Gans, ed., Biology of the Reptilia. Vol.1, Morphology A. London, Academic Press, str. 311–337.

## 8. SAŽETAK

Gastrointestinalna mikroflora gmazova sastoji se od anaerobnih i aerobnih Gram pozitivnih i Gram negativnih bakterija, gljivica i protozoa. Podaci o zdravstvenom stanju te o bakterijama i gljivicama koje zahvaćaju riječne kornjače poprilično su oskudni.

Cilj istraživanja bio je dobiti što bolji uvid u zdravstveno stanje riječnih kornjača, te utvrditi koje bakterije i gljivice prevladavaju. Dobivene informacije mogu biti vrlo korisne u daljnjim istraživanjima, s obzirom da o zdravstvenom stanju i mikroflori riječnih kornjača nema mnogo informacija.

U svrhu istraživanja pregledano je šest kornjača, te su uzeti obrisci usne šupljine i kloake. Kornjače su pregledane i uzorkovane u Zoološkom vrtu Grada Zagreba, gdje su smještene u karantenskom djelu nakon zapljene. Uzorci kloake i usne šupljine su nacijepljeni na različite selektivne i neselektivne hranjive podloge te inkubirani u aerobnim uvjetima na temperaturi od 37°C kroz 24 sata. Bakterije su identificirane bojanjem po Gramu, testom tvorbe citokrom oksidaze i katalaze, te API biokemijskim testom. Za detekciju gljivica, uzorci usne šupljine i kloake nasadeni su na Sabourad agar i inkubirani na sobnoj temperaturi pet dana.

U provedenom istraživanju pronađene su Gram pozitivne i Gram negativne bakterije, s prevagom Gram negativnih. Najprisutnija Gram negativna bakterija bila je *E. coli*, izolirana iz kloake svih šest kornjača.

Iz obrisaka usne šupljine riječnih kornjača izolirano je ukupno 7 različitih vrsta bakterija, od toga dvije vrste Gram pozitivnih (*Bacillus sp.*, *B. cereus*) te pet vrsta Gram negativnih (*P. vulgaris*, *P. alcaligenes*, *C. freundii*, *A. hydrophila*, *M. morgani*).

Iz obrisaka kloake 6 riječnih kornjača izolirano je 8 različitih vrsta bakterija, šest Gram negativnih (*E. coli*, *Salmonella spp.*, *P. alcaligenes*, *A. veronii*, *A. hydrophila* i *M. morgani*) i dvije Gram pozitivne (*Bacillus cereus*, *Kocuria varians*).

Gljivice nisu pronađene u usnoj šupljini niti jedne životinje, dok su u kloaci pronađene samo u dvije životinje i to *A. fumigatus*.

Sve izolirane bakterije, uključujući i *E. coli* koja je pronađena u svih šest kornjača, predstavljaju normalnu mikrofloru probavnog sustava i vodenog okruženja riječnih kornjača. Bez obzira na to, sve navedene bakterije u određenim uvjetima mogu biti patogene za ljude i životinje što treba uzeti u obzir. Tako, u imunokompromotiranih životinja te životinja pod stresom vrlo lako dolazi do infekcija ovim bakterijama.



## 9. SUMMARY

Determining the health conditions of freshwater turtles (*Mauremys rivulata*)

The gastrointestinal microflora of reptiles consists of anaerobic and aerobic Gram positive and Gram negative bacteria, fungi and protozoa. Data on health status of the Balkan pond turtle have declined significantly in numbers over the past years.

The goal of the research was to gain a better insight into the health of Balkan pond turtles and to identify which bacteria and fungi prevail. The information obtained in the research can be valuable for other studies as there is not much information about the health status and microflora of Balkan pond turtles.

For the purpose of this study, six turtles were examined, and the swabs of the oral cavity and cloaca were taken. The turtles were examined and sampled at the Zoo of the City of Zagreb, where turtles were quarantined after being repossessed.

Cloacal and oral cavity specimens were streaked on various selective and non-selective nutrient substrates and incubated under aerobic conditions at 37 °C for 24 hours. The bacterias were identified by Gram staining, a test of cytochrome oxidase and catalase, and API biochemical test.

For the detection of fungi, the samples of the oral cavity and cloaca were streaked onto Sabourad agar and incubated at room temperature for five days.

Gram positive and Gram negative bacteria were found in this study, with Gram negative bacteria being prevalent. The most isolated Gram negative bacterium was *E. coli* which was isolated from all six turtles. A total of 7 different species of bacteria were isolated from the oral cavity of the *M. rivulata*, of which two were Gram positive (*Bacillus sp.*, *B. cereus*) and five Gram negative (*P. vulgaris*, *P. alcaligenes*, *C. freundii*, *A. hydrophila*, *M. morgani*). From cloacal swabs of six pond turtles eight different species of bacteria were identified, five Gram negative (*E. coli*, *Salmonella spp.*, *P. alcaligenes*, *A. veronii*, *A. hydrophilia* and *M. morganii*) and two Gram positive (*Bacillus cereus*, *Kocuria varians*).

No fungi were found in the oral cavity of examined animal, while only in two animals *A. fumigatus* were found in cloaca.

All isolated bacteria, including *E. coli* which was found in all six turtles, represent normal microflora of digestive system and aquatic environment of Balkan pond turtles. However, the pathogenicity of the isolated bacteria and the consequences they may have on humans and animals should be considered. Namely, in immunocompromised animals and animals under stress, infections with these bacteria thrive in these conditions.

## 10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 21. srpnja 1992. godine u Zagrebu. Osnovnu školu sam pohađala u Vrbovcu. Nakon osnovne škole upisala sam opću gimnaziju u Srednjoj školi Vrbovec, koju sam završila 2011. godine. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala sam 2011. godine. Tijekom studija sudjelovala sam na nekoliko međunarodnih veterinarskih kongresa (Eastern European veterinary conference in Beograd 2016., 2. hrvatski kongres veterinara male prakse, The 7<sup>th</sup> International Congress “Veterinary science and profession”).

Provodeći djetinjstvo na obiteljskoj farmi, pokazivala sam izuzetan interes i ljubav prema životinjama i želju za studiranjem veterine. Aktivno sam se bavila tenisom i sudjelovala na mnogobrojnim turnirama.