Mikroflora probavnog sustava poluvodenih kornjača roda Trachemys na području grada Zagreba

Mašala, Nives

Master's thesis / Diplomski rad

2017

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:467026

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Veterinary Medicine - Repository of PHD, master's thesis

zir.nsk.hr

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Zagrebu

Veterinarski fakultet

Nives Mašala

MIKROFLORA PROBAVNOG SUSTAVA POLUVODENIH KORNJAČA RODA *TRACHEMYS* NA PODRUČJU GRADA ZAGREBA

Diplomski rad

Zagreb, 2017.

Zavod za bolesti peradi s klinikom

Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Predstojnik zavoda: Doc. dr. sc. Željko Gottstein

Mentorica: Prof. dr. sc. Estella Prukner-Radovčić

Komentorica: Dr. sc. Maja Lukač

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Doc. Dr. sc. Danijela Horvatek Tomić
2. Prof. dr. sc. Estella Prukner-Radovčić
3. Dr. sc. Maja Lukač

ZAHVALA

Zahvaljujem se profesorici Estelli Prukner-Radovčić na afirmaciji teme diplomskog rada, potpori i stručnom savjetovanju tijekom izrade. Hvala na razumijevanju i svim konstruktivnim kritikama koje su me usmjerile k što boljem pisanju.

Zahvaljujem se doktorici Maji Lukač što mi je omogućila svu potrebnu opremu i pomogla svojim savjetima pri izradi ovog diplomskog rada i što je uvijek imala strpljenja i vremena za moje brojne upite.

I na kraju, hvala mojim roditeljima koji su uvijek bili tu uz mene,što su skupa sa mnom proživjeli sve uspone i padove te zbog kojih sam bila u mogućnosti ostvariti želju studiranja na Veterinarskom fakultetu.

Veliko HVALA svima!

SADRŽAJ:

1. UVOD 1

2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA 2

2.1. KORNJAČE 2

2.2. SLATKOVODNE KORNJAČE (*EMYDIDAE)* 3

2.2.1. Izgled 3

2.2.2. Stanište 4

2.2.3. Prehrana 5

2.2.4. Status 5

2.2.5. Kornjače roda *Trachemys* 6

2.3. PROBAVNI SUSTAV GMAZOVA 8

2.4. MIKROFLORA PROBAVNOG SUSTAVA GMAZOVA 9

3. MATERIJAL I METODE 11

3.1. KLINIČKA PRETRAGA ŽIVOTINJA 11

3.2. UZIMANJE OBRISAKA USNE ŠUPLJINE I KLOAKE 11

3.3. LABORATORIJSKA OBRADA UZORAKA 13

3.3.1. Standardna mikrobiološka pretraga 13

3.3.2. Dokaz bakterija roda *Salmonella* u obriscima kloake 13

3.3.3. Dokaz bakterija roda *Campylobacter* u obriscima kloake 14

3.3.4. Dokaz gljivica u obriscima usne šupljine i kloake 14

4. REZULTATI 15

5. RASPRAVA 19

6. ZAKLJUČCI 23

7. LITERATURA 24

8. SAŽETAK 30

9. SUMMARY 32
10. ŽIVOTOPIS 34

1. UVOD

Kornjače roda *Trachemys* vrlo su popularne kao kućni ljubimci u cijelome svijetu pa tako i u nas. Zbog svog brzog rasta i činjenice da su ektotermne životinje, zahtjevaju veliki prostor i posebne uvjete, u što vlasnici prilikom kupovine nisu upućeni i nerijetko te životinje završavaju puštanjem u obližnje bare, jezera ili rijeke. Većina vrsta slatkovodnih kornjača koje nisu autohtone, introducirane su kroz trgovinu kućnim ljubimcima (MASIN, 2014.). Ove kornjače potječu iz Južne Amerike no tokom dugog niza godina naselile su Europu čime su zbog svoje izrazite agresivnosti i otpornosti te kompeticije za hranom, počele ugrožavati autohtone populacije, primjerice barsku kornjaču (*Emys orbicularis).* Danas, prema Međunarodnom savezu za očuvanje prirode (**IUCN-I**nternational **U**nion for the **C**onservation of **N**ature and Natural resources) *Trachemys scripta elegans* spada u 100 najinvazivnijih vrsta životinja na svijetu.

Podaci o bolestima koje prenose ove vrste kornjača na druge vrste životinja nisu dovoljno poznati, no prema VERGLES RATAJ (2011.) kornjače mogu biti subklinički nosioci različitih patogena koji pod određenim situacijama mogu ispoljiti svoj patološki učinak, a neki od njih mogu zaraziti ljude.

Svrha ovog istraživanja bila je steći detaljniji uvid u mikrofloru probavnog sustava kornjača roda *Trachemys*, te dobiti što više podataka o njezinom sastavu, osobito o mogućoj prisutnosti patogenih mikroorganizama koji potencijalno mogu naštetiti zdravlju ljudi i autohtonih populacija kornjača.

U tu svrhu, obrisci usne šupljine i kloake od ukupno 30 kornjača roda *Trachemys* uzeti su nakon kliničkog pregleda i manuelne fiksacije životinja. Uzorkovane kornjače, ulovljene su u bari nedaleko od centra grada Zagreba, na području Zoološkog vrta. Obrisci su obrađeni u bakteriološkom laboratoriju Zavoda za bolesti peradi s klinikom Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Informacije o mikroflori probavnog sustava ove vrste kornjača mogu biti korisne u liječenju kornjača i drugih vrsta gmazova, ali i ljudi.

2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA

2.1. KORNJAČE

Kornjače su gmazovi koji pripadaju redu *Testudines* (DUBOIS i BOUR, 2010.) i jedini su živi primjerci koji imaju čvrsti oklop. Najraniji poznati primjerak reda *Testudines* seže 157 milijuna godina unatrag, čineći ih tako najstarijom grupom reptila, starijom od zmija i krokodila (JOYCE, 2007.). Danas je širom svijeta poznato 327 vrsta kornjača i 127 podvrsta, a neke od njih nalaze se visoko na ljestvici ugroženih vrsta životinja (VITT i CALDWELL, 2014.). 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 8 vrsta kornjača (JELIĆ i sur., 2012a.). Glavna karakteristika kornjača je oklop koji obuhvaća cijelo tijelo, a podijeljen je na dva dijela: gornji dio koji se naziva karapaks i donji dio koji se naziva plastron. Ukoliko osjete da su u opasnosti većina kornjača može uvući glavu u oklop, a mnoge mogu uvući i noge i rep. Kopnene kornjače imaju kratke, zdepaste noge s tupim kandžama, dok morske kornjače imaju plosnate noge koje funkcioniraju poput peraja. S obzirom na stanište, udovi slatkovodnih kornjača prilagođeni su za plivanje i penjanje, a prsti su spojeni plivaćim kožicama. Kornjače se razlikuju po veličini pa je tako najveća živuća kornjača morska kornjača *Dermochelys coriacea,* koja umjesto karakterističnog, tvrdog oklopa ima izrazito čvrstu kožu. Pojedini primjerci teže oko 680 kg i dužine oklopa 2,3 m. Najveći zabilježeni primjerak težio je 916 kilograma (ECKERT i LUGINBUHL, 1988.). Najmanja kopnena kornjača *(Homopus signatus)* (BRANCH, 1996.) koja obitava u području Južne Afrike, veličine je svega 6 - 8 cm i tjelesne težine oko 140 g (LOEHR, 2008.). Kornjače su raširene po čitavom svijetu, a njihova geografska pozicija utječe na stupanj ugroženosti pojedine vrste.

2.2. SLATKOVODNE KORNJAČE (*EMYDIDAE)*

Slatkovodne kornjače raširene su gotovo diljem cijeloga svijeta osim na kontintentima Australije i Antarktike (GRISMER, 2002.). Predstavnike ove porodice najčešće nalazimo u području sjeverne i centralne Amerike, zapadne Indije i južne do jugozapadne Južne Amerike. U zemljama starog svijeta rasprostranjene su u Europi, sjevernozapadnoj Africi i Aziji pa sve do južnog i istočnog Indo-Australijskog arhipelaga (GRISMER, 2002.).

Porodica *Emydidae* je najveća porodica slatkovodnih kornjača koje se još nazivaju barskim ili močvarnim kornjačama (ERNST, 1994.) Najraznovrsnija je porodica slatkovodnih kornjača kojoj pripada preko pedeset vrsta i deset rodova kornjača (RHODIN, 2010.). Prema RHODINU (2010.), porodica *Emydidae* podijeljena je na dvije podporodice i deset rodova:

Podporodica: ***Emydinae***

Rod: *Clemmys*
Emys (uključujući prijašnje rodove *Actinemys* i *Emydoidea*)
Glyptemys
Terrapene

Podporodica: ***Deirochelyinae***

Rod: *Chrysemys*
Deirochelys
Graptemys
Malaclemys
Pseudemys
Trachemys

2.2.1. Izgled

Vanjsku strukturu tijela slatkovodnih kornjača čini specifični i vrlo prepoznatljivi oklop. Gornji dio oklopa je u mnogih slatkovodnih kornjača oblika spuštenog luka dok je u nekih vrsta više uzdignut. Na karapaksu može biti uočljiv jedan ili dva grebena koji se protežu od prednjeg do stražnjeg dijela životinje no ovo obilježje može i izostati. Prominirajući most karapaksa povezuje gornji oklop s plastronom koji je u slatkovodnih kornjača širok. Neke vrste ove porodice imaju pokretni zglob koji odvaja pektoralne i abdominalne pločice (ERNST, 1994.). Slatkovodne kornjače variraju u svojoj veličini. Raspon oklopa kreće se od 11 cm (*Clemmys* sp.)

do približno 60 cm (*Kachuga* sp.) (PECOR, 2003.). Koloristične karakteristike različite su u pojedinih vrsta ove porodice i nemaju posebno prepoznatljivih površinskih karakteristika (PECOR, 2003.). Slatkovodne kornjače najčešće su smeđe do maslinastozelene boje dok vrste poput *Trachemys scripta scripta* i *Trachemys scripta elegans* mogu imati karakteristične žute i crvene oznake po glavi i nogama. Osnovna boja karapaksa riječne kornjače (*Mauremys rivulata)* je tamna sivosmeđa ili zelenkasta dok su rubovi pločica tamnije, crne boje. Mladi primjerci su živahnijih boja s retikulacijama karapaksa. Trbušna strana oklopa je crvenosmeđe do crne boje s svijetlim vanjskim rubovima. Boja plastrona starijih primjeraka često izblijedi. Temeljna boja mekih dijelova životinje- glave, repa i ekstremiteta, je tamna, nalik boji karapaksa te se na vratu i nogama javljaju longitudinalne blijedožute linije (JELIĆ i sur., 2012b.). Barska kornjača (*Emys orbicularis*) je karakteristične tamne boje sa žutim šarama, a koža je crna sa žutim točkastim mrljama (JELIĆ i sur., 2012c.). Udovi slatkovodnih kornjača prilagođeni su za plivanje, a prsti su spojeni plivaćim kožicama. Pojedine vrste slatkovodnih kornjača imaju kratke zdepaste noge sa sraslim prstima i tupim pandžama. Karakteristika porodice je i broj prstiju, pa tako poluvodene kornjače imaju pet prstiju na prednjim i četiri na stražnjim nogama (JELIĆ i sur., 2012c.). Kornjače porodice *Emididae* je moguće razlikovati od ostalih vrsta po tome što imaju malu glavu, kratki rep i široki dio oklopa koji povezuje karapaks i plastron (GRISMER, 2002.).

2.2.2. Stanište

Porodica *Emydidae* obitava u slatkim vodama, iako neke vrste mogu naseljavati bočate vode (*Malaclemmys terrapin)* i kopno. Kada govorimo o kornjačama koje žive na kopnu, tada govorimo o kopnenim vrstama slatkovodnih kornjača, primjerice kornjače roda *Terrapene* (PECOR, 2003.). Stanište slatkovodnih kornjača uključuje jezerca, bare i močvare (BRINGSØE 2006.). Neke vrste slatkovodnih kornjača, primjerice barska kornjača (*Emys orbicularis*), preferiraju močvare okružene šumovitim krajolikom (FICETOLA, 2006.). Nastanjuju gotovo sve vrste kopnenih voda i poplavnih područja preferirajući one s gušćom vodenom vegetacijom, obilnim životinjskim plijenom te sunčanijim obalama (JELIĆ i sur., 2012c.). Prema podacima Globalne baze podataka invazivnih vrsta (Global Invasive Species Database) pojedine vrste emidida, kao što je crvenouha kornjača (*Trachemys scripta elegans)*, autohtone su u Sjedinjenim Američkim Državama, no introducirane su širom svijeta duž obalnih područja, riječnih tokova i

jezera. Invazivne vrste, koje su nekada bile kućni ljubimci, raširene su u različitim staništima što je posljedica nesavjesnog puštanja životinja, u obližnja jezera, bare i močvare. Kornjače roda *Trachemys* moguće je naći u svim područjima Hrvatske po barama, potocima, jezerima i fontanama čime dodatno ugrožavaju populacije naših rijetkih, autohtonih slatkovodnih vrsta. Vrste emidida, poput riječne kornjače možemo naći u područjima mediteranskog nizinskog krajolika, u rijekama, potocima, kanalima za navodnjavanje, izvorima, lokvama, jezerima i močvarama u populacijama visoke gustoće. Preferira mirnije vode s muljevitim dnom i vegetacijom te ne dolazi u brzim dijelovima toka rijeka. Riječna kornjača je najugroženija vrsta gmaza u Hrvatskoj i nastanjuje samo uska područja južnih dijelova zemlje (JELIĆ i sur., 2012b.). Barska kornjača nastanjuje gotovo sve vrste kopnenih voda i poplavnih područja preferirajući pritom one s gušćom vodenom vegetacijom, obilnim životinjskim plijenom te sunčanijim obalama (JELIĆ i sur., 2012c.).

2.2.3. Prehrana

Većina vrsta slatkovodnih kornjača su svejedi no neke vrste emidida mogu biti isključivi mesojedi ili biljojedi. Prehrana mesojednih vrsta slatkovodnih kornjača sastoji se od kolutičavca, rakova i riba. U nekoliko vrsta emidida dolazi do promjene tipa prehrane tijekom rasta, pa tako juvenilne mesojedne vrste postaju biljojedi u odrasloj dobi (PECOR, 2003.). Većina vrsta poluvodenih kornjača kao mlade preferiraju mesnu hranu, dok tijekom rasta sve više postaju svejedi, i počinju se hraniti i biljnom hranom (BURGER, 2009.). Primjerice barska kornjača (*Emys orbicularis*), dugo je bila smatrana isključivim mesožderom koji se hrani vodenim beskralješnjacima, vodozemcima i ribama dok novija istraživanja pokazuju da se hrani i biljnom hranom (JELIĆ i sur., 2012c.).

2.2.4. Status

Područje Hrvatske naseljavaju dvije vrste slatkovodnih kornjača, barska kornjača (*Emys orbicularis*) i riječna kornjača (*Mauremys rivulata*), obje ugrožene i zaštićene Zakonom o zaštiti prirode (NN 80/2013) (ANON, 2013.). Riječna kornjača (*Mauremys rivulata*) ugrožena je zbog

ubrzanog nestanka, degradacije i fragmentacije staništa zbog urbanizacije, regulacije vodotoka, neodržavanja vodenih staništa, stradavanja na prometnicama. Ugrožene su i od strane predatora te zbog nenamjernog ubijanja korištenjem vrša za lov žaba i riba u koje se zapletu. Jedan od uzroka ugroženosti su herbicidi i pesticidi, osobito fungicidi na osnovi bakra koji se koriste u intenzivnom voćarstvu, vinogradarstvu, povrtlarstvu i maslinarstvu (JELIĆ i sur., 2012b.). Barske kornjače (*Emys orbicularis*), osobito otočne populacije, imaju tendenciju pada brojnosti radi destrukcije vodenih i poplavnih staništa (JELIĆ i sur., 2012c.).

Ljudski faktor glavni je uzrok promjene statusa pojedinih vrsta slatkovodnih kornjača jer neoprezno i nesavjesno puštanje invazivnih vrsta kornjača u obližnja jezerca i bare utječe na smanjenje populacije autohtonih vrsta. Prema IUCN-u crvenouha kornjača (*Trachemys scripta elegans*) nalazi se visoko na ljestvici najinvazivnijih vrsta slatkovodnih kornjača i predstavlja veliku opasnost opstanku autohtonih kornjača, posebice barske kornjače. Ove kornjače su česti kućni ljubimci koje neodgovorni vlasnici puštaju u prirodu te zbog svoje invazivnosti ugrožavaju opstanak autohtonih vrsta. Kako navodi GISD (2017.), pojedine vrste slatkovodnih kornjača nalaze se na popisu vrlo ugroženih vrsta, dok su neke od vrsta na rubu izumiranja.

2.2.5. Kornjače roda *Trachemys*

Sistematika kornjača:

Carstvo: Animalia

Koljeno: Chordata

Klasa: Sauropsida

Potklasa: Anapsida

Red: Testudinae

Porodica: **Emydidae**

Rod: ***Trachemys***

Vrsta: ***Trachemys scripta***

Podvrsta: ***Trachemys scripta scripta, Trachemys scripta elegans, Trachemys scripta troosti***

Kornjače roda *Trachemys* su poluvodene kornjače karakterističnog izgleda i boje. Temeljna boja kože i oklopa je zelena s varijacijama u boji i oznakama. Kornjače koje pripadaju ovom rodu, *Trachemys scripta scripta, Trachemys scripta elegans* i *Trachemys scripta troosti,* imaju individualan, poseban uzorak boja na osnovu kojih je moguće identificirati o kojoj je vrsti riječ (SOMMA i sur., 2017.). Obitavaju u raznim vodenim staništima, najćešće onim s muljevitim dnom, minimalnim protokom, nesmetanom pristupu sunčevoj svjetlosti i opsežnoj vegetaciji (VAN DIJK i sur., 2011.). Poluvodene kornjače roda *Trachemys* autohtone su u Sjedinjenim Američkim Državama no rasprostranjene su diljem svijeta, posebice u Europi, zbog uvoza i trgovine kućnim ljubimcima. Vrsta je procijenjena najmanje ugroženom s obzirom na široku distribuciju, toleranciju širokog raspona staništa i veliku populaciju (VAN DIJK i sur., 2011.). Crvenouha kornjača, latinskog naziva *Trachemys scripta elegans,* kao što je to još 1838. opisao WIED (VAND DIJK i sur., 2011.), prepoznatljiva je po crvenim oznakama koje se nalaze na glavi s lijeve i desne strane. Obično su te oznake poput crvene pruge na svakoj strani glave, ponekad i u obliku crvenih točki na vrhu glave, a varira u boji od narančaste do tamno crvene no u nekih ove oznake mogu i izostati. Tipična boja kože i oklopa crvenouhih kornjača je zelena. Na karapaksu su vidljivi žuto-zeleni do tamno-zeleni uzorci. S godinama se boja oklopa mijenja. U mladih jedinki karakteristična zelena boja može biti zamijenjena žutom bojom. U starijih jedinki karapaks je više uniformne boje zbog toga što s vremenom kontrast boja između oklopa i uzoraka blijedi (CONNOR, 1992.). U žutouhih kornjača oznake na glavi su u obliku žutih mrlja što je najočitije u mlađih jedinki (SOMMA i sur., 2017.). *Trachemys scripta troosti* vrlo je slična po svom vanjskom izgledu i bojama crvenouhoj kornjači no možemo ju razlikovati po tome što ima usku žutu prugu iza svakog oka, a manje širih pruga na nogama, vratu i glavi (SOMMA i sur., 2017.). Plastron je žute boje, nešto širi na prednjem dijelu i sastavljen je od 12 koštanih pločica koje su međusobno spojene. Crvenouhe kornjače imaju okruglu glavu s izbočenim nosom. Prsti su spojeni plivaćom kožicom na kojima se nalaze kandže. Mužjaci, za razliku od ženki, imaju duže kandže na prednjim nogama. Većina rasta crvenouhe kornjače odvija se u ranijim godinama i ne rastu čitavog života. Odrasle ženske jedinke narastu veličine 25 do 30 centimetara dok mužjaci narastu 20 do 25 centimetara dužine (BURGER ,2009.). Prirodna staništa u blizini naseljenih područja također su mjesta puštanja i nalaza ove vrste. (BRINGSØE, 2006.). Crvenouhe kornjače su oportunistički svejedi što je jedna od karakteristika koja ih čini toliko invazivnima. Prehrana ove vrste obuhvaća ishranu miješavinom zelenog bilja kao što su maslačci

(*Taraxacum officinale*), ali i vodenu vegetaciju, primjerice vodeni zumbul (*Eichhornia crassipes*), vodena leća (*Lemna minor*) i vodena kuga (*Elodea canadensis*). Osim biljne prehrane, hrane se i hranom koja je bogata proteinima, a ona uključuje gliste (*Lumbricus terrestris*), male, prozirne škampe (*Palaemonetes kadakensis*), žabe, manje ribe, rakove i člankonošce (BURGER, 2009.). Mlade crvenouhe kornjače veći su mesožderi od odraslih jedinki, ali sa starošću postaju sve više orijentirani na prehranu koja uključuje biljnu i životinjsku hranu. Crvenouhe kornjače su oportunistički, agresivni lovci koji preferiraju plijen u pokretu. Njihova se ishrana mijenja sezonski. Za vrijeme ljetnih mjeseci ishrana je bazirana na biljnoj i životinjskoj hrani, dok je za vrijeme zimskih mjeseci bazirana samo na biljnoj hrani (BURGER, 2009.). Temperatura određuje režim hranjenja. Kada završe sa hranjenjem, sunčaju se duži period kako bi aktivirale metabolizam (BURGER, 2009.).

Crvenouha kornjača smatra se vrlo čestim kućnim ljubimcem koji se u velikom broju uzgaja na jugu Sjedinjenih Američkih Država za globalnu trgovinu po cijelom svijetu (VAN DIJK i sur., 2011.). U većine slatkovodnih staništa uvedena je kao posljedica trgovine egzotičnim ljubimcima (POLO-CAVIA i sur., 2014.). Uvozom u Europu predstavlja prijetnju autohtonim vrstama i cjelokupnom ekosustavu (VAN DIJK i sur., 2011.).

2.3. PROBAVNI SUSTAV GMAZOVA

Ovisno o vrsti, kornjače se dijele na mesojede, biljojede i svejede, no za sve je karakteristično da u usnoj šupljini nemaju zube već su im čeljusti prekrivene oštrom rožnatom pločom u obliku kljuna. Ne žvaču hranu već koriste rožnati kljun i snažne mišiće vrata kako bi otkidale komade hrane. Horizontalno se po sredini kljuna nalazi površina koja im služi za drobljenje hrane. U ustima se nalazi debeli, mesnati jezik koji ima mnoštvo osjetilnih pupoljaka, ali nije pomičan i nemoguće ga je izvaditi iz usne šupljine (CHITTY i RAFTERY, 2013.). Žlijezde slinovnice proizvode sluz što omogučava gutanje komadića hrane prilikom čega nema djelovanja probavnih enzima (DIVERS i MADER, 2005.). Na usnu šupljinu nastavlja se jednjak koji se proteže duž vrata. Usporedna istraživanja pokazuju da postoje razlike u strukturi i funkciji probavnog sustava između mesojednih, svejednih i biljojednih vrsta te da su morfološke varijacije regulirane razlikama u prehrani (GRADY i sur., 2005.). Želudac se proteže lijevo i ventralno duž celomne šupljine, te sadrži gastroezofagijalne i piloričke zaliske. (DIVERS i

MADER, 2005.). Tanko crijevo, u usporedbi sa sisavcima, nešto je kraće, blago savijeno i u njemu se odvija resorpcija vode i nutrijenata (DIVERS i MADER, 2005.). Želudac, tanko crijevo, gušterača, jetra i žučni mjehur proizvode probavne enzime. Gušterača svoje enzime luči u dvanaestnik putem kratkog kanala i kao u sisavaca, ima endokrinu i egzokrinu funkciju. (DIVERS i MADER, 2005.). Jetra kornjača je veliki, ventralno položeni organ, izgleda poput sedla koji se proteže cijelom širinom tijela i smještena je ispod pluća. Jetra je građena od dva velika režnja. Ona obavija žućni mjehur i na njoj su vidljiva udubljenja srca i želuca. Na tanko crijevo nastavlja se debelo koje je od tankog crijeva odvojeno ileokoličnim zaliskom. Slijepo crijevo kod kornjača je slabo razvijeno. Debelo crijevo je primarno mjesto mikrobne fermentacije u biljojednih vrsta kornjača i ono završava u kloaci (DIVERS i MADER, 2005.). Na vrijeme pasaže hrane kroz probavni sustav utječu brojni faktori poput temperature, učestalosti hranjenja te količine vode i vlakana u hrani (DIVERS i MADER, 2005.). Brzina kojom hrana prolazi kroz probavni sustav može varirati ovisno o volumenu, tipu i kompoziciji hrane, o temperaturi tijela, duljini probavnog sustava i zdravlju gmazova. U malih, mesojednih vrsta ljuskaša, prolazak hrane probavnim sustavom može biti unutar dva do četiri dana, a u velikih zmija, biljojednih vrsta kornjača i guštera može potrajati tri do pet tjedana (MADER, 2006.).

2.4. MIKROFLORA PROBAVNOG SUSTAVA GMAZOVA

Dosadašnja istraživanja opisuju brojne fiziološke i potencijalno patogene vrste gram-negativnih i gram-pozitivnih bakterija, koje su izolirane iz usne šupljine i kloake gmazova (GIOIA DI CHIACCHIO i sur.,2014.; JHO i sur, 2011.; NAGLIĆ i sur., 2005.; LUKAČ i sur. 2017.; MADER, 2006.). Neke vrste gmazova, primjerice zmije, nosioci su širokog spektra bakterija u usnoj šupljini poput *Stenotrophomonas maltophilia, Serratia marcescens, Aeromonas hydrophila* i *Pseudomonas aeruginosa*, koje prilikom ugriza mogu uzrokovati infekcije (DIPINETO i sur., 2013.).

Među gram-negativnim bakterijama koje se nalaze u crijevnoj mikroflori kornjača, postoje potencijalno patogene bakterije, kako za životinje tako i za ljude, a u njih spadaju *Salmonella* spp., *Pseudomonas* sp., *Klebsiella* spp., *Aeromonas* spp., i *Escherichia coli* (GIOIA-DI CHIACCHIO i sur.,2014.). U navedenom istraživanju najčešće izolirane bakterije iz kloake

kornjača bile su *Kluyvera ascorbata, Leclercia adecarboxylata, Raoutella planticola, Citrobacter freundii, Proteus sp.* i *Escherichia coli*.

Prema MADER (2006.) većina gram-pozitivnih bakterija nije patogena i smatra se uobičajenim nalazom u gmazova, no neke vrste poput *Corynebacterium* sp., *Staphylococcus* spp. i *Streptococcus* sp., mogu uzrokovati oboljenja, posebno u imunokompromitiranih životinja. U navedenom istraživanju kao najčešće izolirane gram-negativne bakterije probavnog sustava gmazova navode se *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp., *Aeromonas* spp., *Serratia* spp., *Providencia* spp., *Escherichia coli, Klebsiella* spp., *Chlamydia, Mycoplasma* i *Mycobacterium* spp. Većina navedenih bakerija nalazi se u okolišu.

Nekoliko studija pokazuje da kornjače mogu biti rezervoari salmonele (SHANE i sur. 1990.), uključujući češće serotipove *Salmonella enterica* (CHEN i sur., 2010.) te serotipove koji se rijeđe mogu naći u ljudi, poput *Salmonella arizonae, Salmonella newport* i *Salmonella poona* (PASMANS i sur., 2003.; RICHARDS i sur. 2004.). Neki serovarovi salmonela često su izolirani iz vode i okoliša u kojoj kornjače žive, što ukazuje i na mogućnost indirektnog prijenosa ove bakterije i njenu otpornost u okolišu (SHANE i sur., 1990.).

Prema LUKAČ i sur. (2015.) salmoneloza koju prenose gmazovi predstavlja sve veći problem javnog zdravstva širom svijeta s obzirom da su gmazovi asimptomatski nosioci i prirodni rezervoari salmonela. U provedenom istraživanju, iz uzoraka uzetih s kože, iz ždrijela, kloake i fecesa naizgled zdravih gmazova, izolirane su razne podvrste bakterije *Salmonella enterica* kao i serovarovi koji se rijetko javljaju poput *Salmonella apapa, Salmonella halle, Salmonella kisarawe* i *Salmonella potengi.*

3. MATERIJAL I METODE

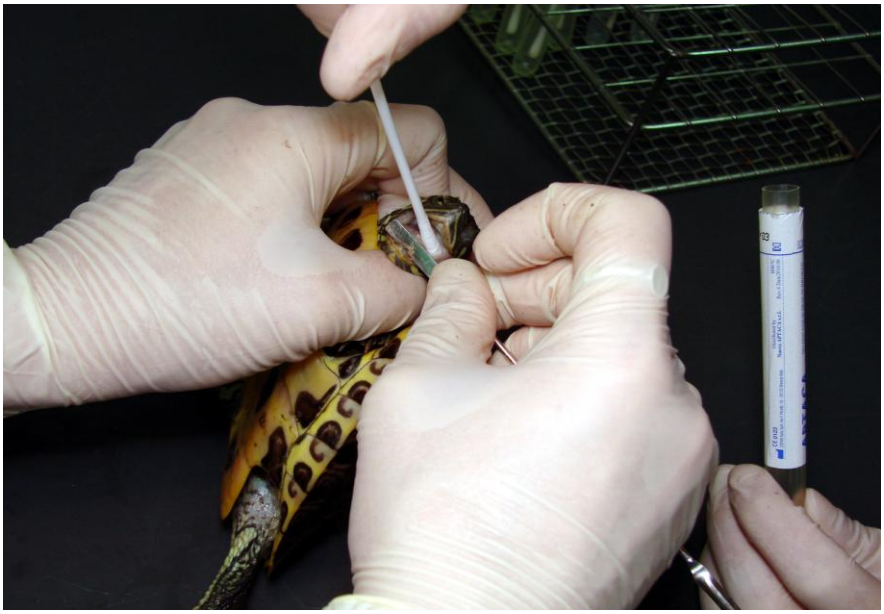
Za potrebe istraživanja mikroflore probavnog sustava kornjača roda *Trachemys* uzeti su obrisci usne šupljine i kloake od ukupno 30 kornjača prethodno puštenih od strane vlasnika u jezero u blizini centra grada.

3.1. KLINIČKA PRETRAGA ŽIVOTINJA

Kornjače su hvatane manuelno, pomoću mrežica za ribe i dopremljene na Zavod za bolesti peradi s klinikom Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Prije uzorkovanja, životinje su izvagane i izmjerene, te je određen spol i vrsta. Klinički pregled obuhvaćao je inspekciju oči, nosnica, usne šupljine kloake, repa i kože te je pregledana cijela površina tijela zbog mogućih patoloških promjena i mehaničkih ozljeda. Spol je određen na temelju sekundarnih spolnih karakteristika, a vrsta na temelju izgleda oklopa, šara na glavi, te karapaksu i plastronu.

3.2. UZIMANJE OBRISAKA USNE ŠUPLJINE I KLOAKE

Obrisci usne šupljine uzeti su na način da je jedna osoba držala životinju u vertikalnom položaju, fiksirala glavu i sterilnim peanom otvarala usta, dok je druga osoba sterilnim obriskom (Copan, Italija) bez transportnog medija uzimala obrisak sluzinice usne šupljine, rotirajućim pokretima. Svi korišteni instrumenti dezinficirani su između svake uzorkovane životinje (Slika 1.). Obrisci kloake uzimani su na način da je jedna osoba držala životinju u horizontalnom položaju, a druga osoba je sterilnim obriskom bez transportnog medija uzimala obris (Copan, Italija) (Slika 2.).



Slika 1. Uzimanje obrisaka usne šupljine



Slika 2. Uzimanje obrisaka kloake

3.3. LABORATORIJSKA OBRADA UZORAKA

3.3.1. Standardna mikrobiološka pretraga

Nakon uzorkovanja obrisci usne šupljine i kloake obrađeni su u mikrobiološkom laboratoriju Zavoda za bolesti peradi s klinikom Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Za dokaz bakterija u uzorcima obrisci su nacijepljeni na neutralnu (Difco Nutrient Agar, Becton, Dickinson and Company, SAD) i selektivnu (Brilliant green agar - modified, Oxoid, Velika Britanija) krutu hranjivu podlogu u sterilnim uvjetima, te su inkubirani 24 sata u aerobnim uvjetima, pri sobnoj temperaturi. Rezultati nacijepljenih hranjivih podloga očitavani su nakon 24 i 48 sati, a izrasle bakterijske kolonije identificirane su prema morfološkim karakteristikama specifičnim za pojedine vrste bakterija. Identifikacija gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija rađena je pomoću bojenja prema Gramu (Gramova otopina, Gram – Mol d.o.o., Hrvatska).

Određivana je reakcija aktivnosti oksidaze i katalaze. Reakcija aktivnosti oksidaze određivana je tako da se jedna, pojedinačna kolonija bakterije prenesla sterilnom ezom na trakicu za određivanje reakcije (Oxidase strips, Oxoid, Velika Britanija). Nakon pet sekundi, tamnoplava promjena boje trakice ukazivala je na pozitivnu reakciju, a nedostatak tamnoplave boje ukazivala je na negativnu reakciju. Reakcija katalaze određivala se na način da se uzela jedna pojedinačna kolonija izolirane bakterije i miješala s jednom kapi 30% -tne otopine vodikovog peroksida (Vodikov peroksid, Kemika, Hrvatska). Nakon nekoliko sekundi, uz izdvajanje mjehurića kisika vidljivih kao pjenušanje, zabilježena je pozitivna reakcija katalaze. Ovim se testom htjelo utvrditi tvori li bakterija enzim katalazu koja vodikov peroksid razgrađuje na vodu i kisik. Završna identifikacija bakterijskih kolonija, čija identifikacija nakon navedenih testova nije bila zadovoljavajuća, rađena je API biokemijskim testovima (API 20 E, API 20 NE i API Staph System, Bio Merieux S.A, Francuska).

3.3.2. Dokaz bakterija roda *Salmonella* u obriscima kloake

Za dokaz salmonele, uzorci kloake dodatno su oplemenjivani tekućom hranjivom podlogom Selenite bujon (Selenit bujon, Becton, Dickinson and Company, SAD) u omjeru 1:9 i inkubirani pri 37 °C kroz 24 sata. Nakon inkubacije uzorci su s tekuće hranjive podloge presađivani na Brilliant green agar - modified (Oxoid, Velika Britanija) i Xylose lysine

deoxycholate agar (Oxoid, Njemačka) te ponovno inkubirani pri 37 °C tijekom 24 sata. Prisustvo sumnjivih kolonija očitavano je nakon 24 sata.

3.3.3. Dokaz bakterija roda *Campylobacter* u obriscima kloake

Za dokaz kampilobaktera u obriscima kloake, uzorci su nasađivani na mCCDA - Preston (Modified CCDA-Preston agar, Oxoid, Velika Britanija) krutu hranjivu podlogu, te inkubirani u mikroaerofilnim uvjetima (5% CO_2) pri 37 °C kroz 48 sati. Nakon inkubacije podloge su očitavane na prisustvo sumnjivih kolonija.

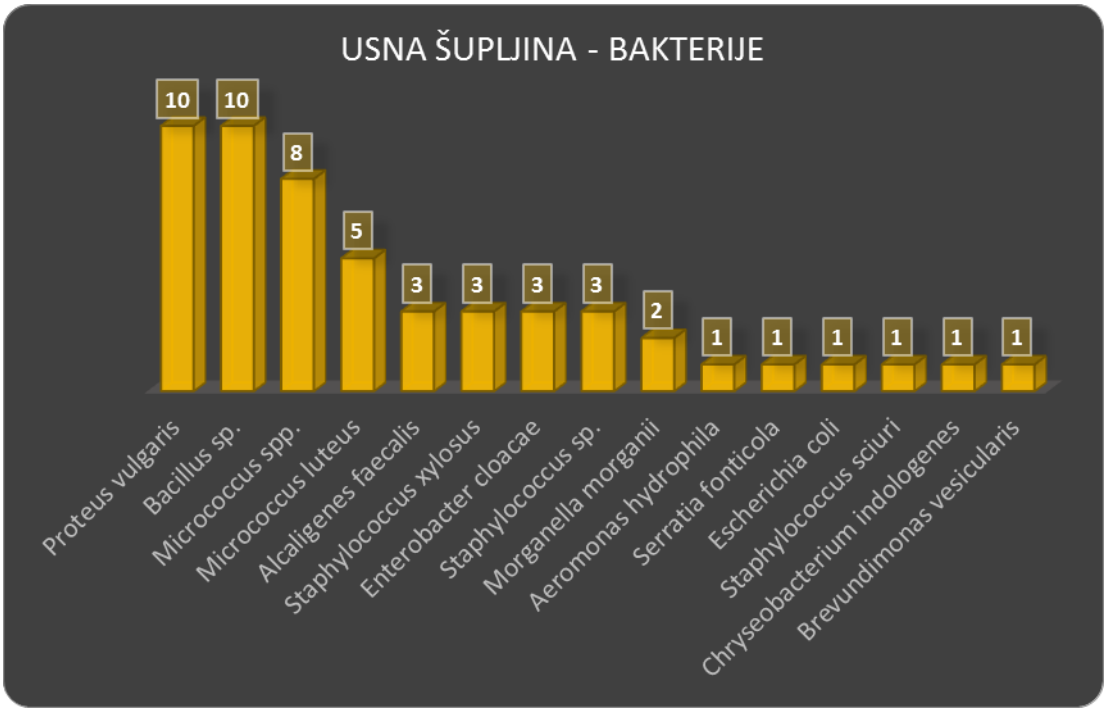
3.3.4. Dokaz gljivica u obriscima usne šupljine i kloake

Za dokaz gljivica u uzorcima, obrisci usne šupljine i kloake nasađivani su na Sabouraud hranjivu podlogu (Sabouraud dextrose agar, Oxoid, England) te inkubirani kroz pet dana pri sobnoj temperaturi. Izrasle kolonije gljivica identificirane su na osnovi morfoloških karakteristika i mikroskopski pomoću bojanja laktofenolom (Lactophenol blue solution, Sigma-Aldrich, France).

4. REZULTATI

Sve uhvaćene i uzorkovane kornjače roda *Trachemys* bile su odrasle jedinke. Kliničkim pregledom, na temelju boje i izgleda sluznice, u pojedinih je kornjača ustanovljena anemija i izgladnjelost. Nisu uočene promjene na očima, nosnicama, koži i oklopu. Od 30 jedinki, 11 ih je bilo muškog, a 19 ženskog spola., dok je 10 životinja pripadalo vrsti *Trachemys scripta scripta*, a 20 životinja vrsti *Trachemys spcripta elegans.*

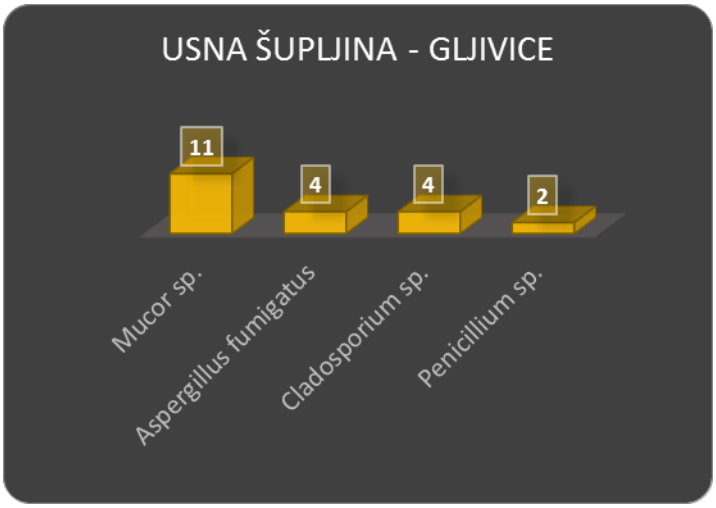
Iz obrisaka usne šupljine izolirano je ukupno 15 različitih bakterijskih vrsta, od čega je devet vrsta gram-negativnih (*Proteus vulgaris, Alcaligenes, faecalis, Enterobacter cloacae, Morganella morganii, Aeromonas hydrophila, Serratia fonticola, Escherichia coli, Chryseobacterium indologenes* i *Brevundimonas vesicularis)* i šest vrsta gram-pozitivnih bakterija (*Bacillus* sp., *Micrococcus* spp., *Micrococcus luteus, Staphylococcus* sp., *Staphylococcus xylosus* i *Staphylococcus sciuri*) (Slika 3.).



Slika 3. Zastupljenost pojedinih bakterija izoliranih iz usne šupljine kornjače roda *Trachemys*

Najzastupljenije vrste bakterija u usnoj šupljini bile su *Proteus vulgaris* i *Bacillus* sp., obje s po deset izolata (33,3%). Bakterija *Micrococcus* spp. izdvojena je u 26,6% slučajeva i *Micrococcus luteus* u 16,6%. Bakterije *Alcaligenes faecalis, Staphylococcus xylosus, Enterobacter cloacae* i *Staphylococcus* sp. imale su jednak udio zastupljenosti s 10%. U usnoj šupljini zastupljenost bakterije *Morganella morganii* iznosila je 6,6%, dok su najmanju zastupljenost s po jednim izolatom činile *Aeromonas hydrophila, Serratia fonticola, Escherichia coli, Staphylococcus sciuri, Chryseobacterium indologenes* i *Brevundimonas vesicularis* sa svega 3,3% zastupljenosti (Slika 3.).

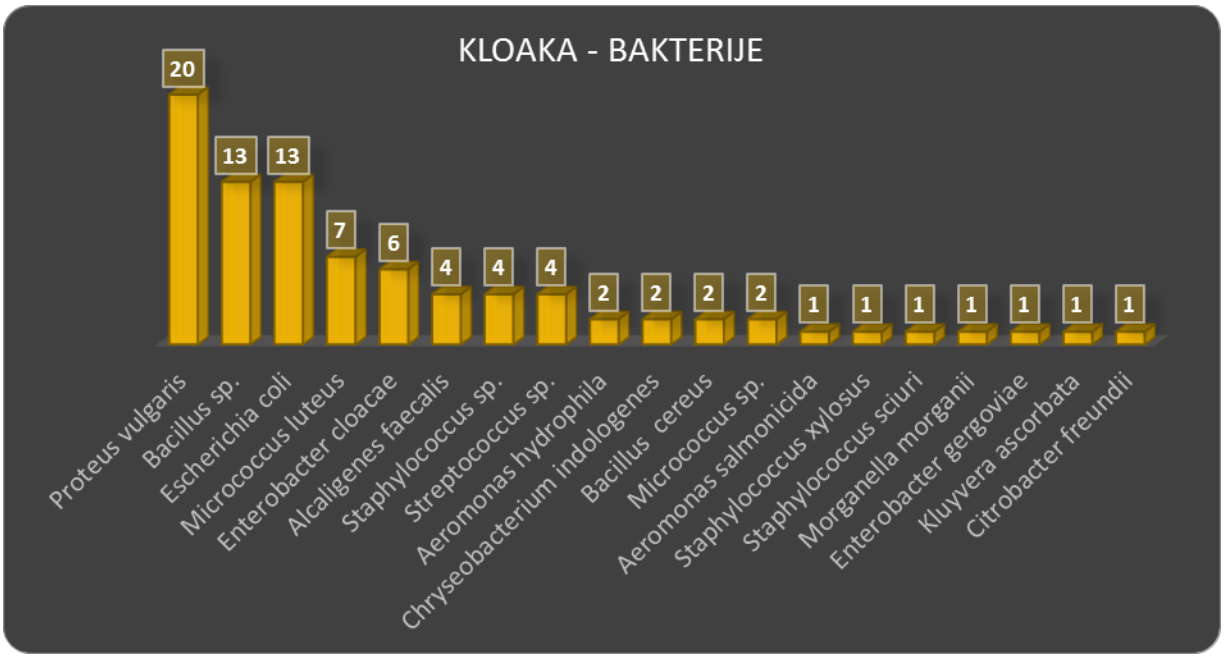
Iz usne šupljine izolirano je 11 izolata gljivice *Mucor* sp. s postotkom zastupljenosti od 36,6%. Po četiri izolata činile su gljivice *Aspergillus fumigatus* i *Cladosporium* sp. s jednakim postotkom zastupljenosti od 13,3%, a samo dva izolata u usnoj šupljini činio je *Penicillium* sp. s 6,6% zastupljenosti (Slika 4.).



Slika 4. Zastupljenost pojedinih gljivica izoliranih iz usne šupljine kornjača roda *Trachemys*

Iz obrisaka kloake kornjača izolirano je ukupno 19 različitih vrsta bakterija, od kojih je 11 gram-negativnih (*Proteus vulgaris, Enterobacter cloacae, Alcaligenes faecalis, Aeromonas hydrophila, Chryseobacterium indologenes, Aeromonas salmonicida, Morganella morganii, Enterobacter gergoviae, Kluyvera ascorbata* i *Citrobacter freundii*) i osam gram-pozitivnih

bakterija (*Bacillus* sp., *Micrococcus luteus, Staphylococcus* sp. *Streptococcus* sp., *Bacillus cereus, Micrococcus* spp, *Staphylococcus xylosus* i *Staphylococcus sciuri*) (Slika 5.).

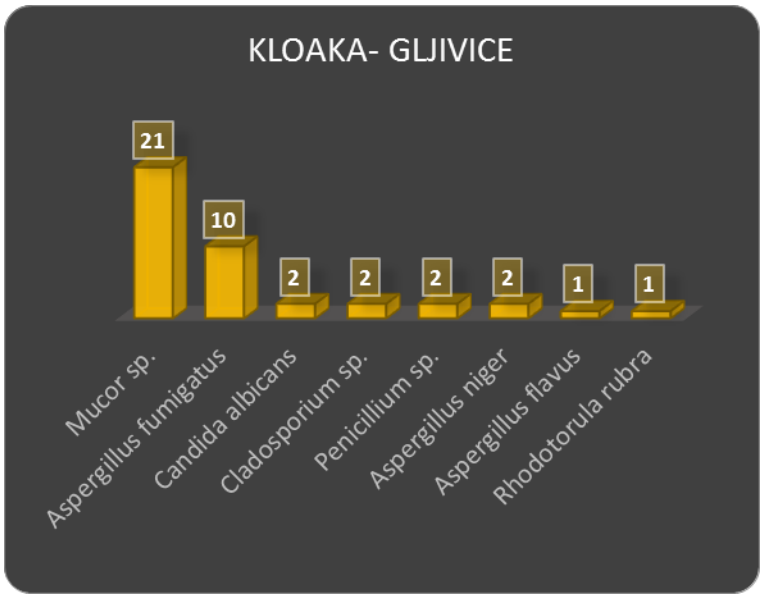


Slika 5. Zastupljenost pojedinih bakterija izoliranih iz kloake kornjača roda *Trachemys*

Izolirane bakterije iz obrisaka kloake bile su pretežno gram-negativne. Najzastupljenija bakterija s 20 izolata je *Proteus vulgaris* sa zastupljenošću od 66,6 %. Udio zastupljenosti od 43,3%. činile su bakterije *Bacillus* sp. i *Escherichia coli*. Sedam izolata činio je *Micrococcus luteus* s 23,3% zastupljenosti, šest izolata činio je *Enterobacter cloacae* s 20% zastupljenosti, a po 4 izolata iz kloake činile su bakterije *Alcaligenes faecalis, Staphylococcus* sp., i *Streptococcus* sp. s postotkom zastupljenosti od 13,3%. Bakterije roda *Aeromonas hydrophila* (6,6%), *Chryseobacterium indologenes* (6,6%), *Bacillus cereus* (6,6%), i *Micrococcus* spp. (6,6%) imale su po dva izolata, a samo jedan izolat imale su *Aeromonas salmonicida, Staphylococcus xylosus, Staphylococcus sp., Morganella morganii, Enterobacter gergoviae Kluyvera ascorbata* i *Citrobacter freundi* s postotkom zastupljenosti od 3,3%.

Iz obrisaka kloake izolirana je gljivica *Mucor* sp. (70%), što predstavlja značajnu zastupljenost s obzirom na veličinu uzorka. Deset izolata u kloaci imala je gljivica *Aspergillus*

fumigatus (33,3%). Jednaku zastupljenost s dva izolata imale su *Candida albicans*, *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. i *Aspergillus niger s* 6.6%. Po jedan izolat pronađen je kod *Aspergillus flavus* i *Rhodotorula rubra* s postotkom zastupljenosti od svega 3,3% (Slika 6.).



Slika 6. Zastupljenost pojedinih gljivica izoliranih iz kloake kornjača roda *Trachemys*

5. RASPRAVA

Mikrofloru probavnog sustava gmazova čine brojne gram-pozitivne i gram-negativne bakterije (MADER, 2006.). Od ukupno 30 uzorkovanih kornjača, iz obrisaka usne šupljine izolirano je 15 a iz obrisaka kloake 19 različitih vrsta bakterija koje pripadaju i gram-negativnoj i gram-pozitivnoj populaciji.

Bakterije roda *Aeromonas* su oportunistički patogeni za sve reptile. Dio su fiziološke mikroflore, no u životinja koje su izložene stresu i imunokompomitiranih jedinki mogu uzrokovati bolest, ali i smrt. Bolesti koje su vezane za bakteriju *Aeromonas hydrophila* variraju u kliničkim znakovima od akutne septikemije pa sve do benignih, latentnih infekcija, ulceracija po koži, anemije i ascitesa (HOFF i sur., 1984.).

Aeromonas salmonicida pripada porodici *Aeromonadaceae* i uzrokuje furunkulozu u salmonicidnih vrsta riba (WOOD, 1986.). Najčešća mjesta puštanja kornjača su u obližnja jezera u kojima borave i ribe, a s obzirom da su kornjače mesojedi, nije isključena mogućnost prijenosa bakterije *Aeromonas salmonicida* s riba na kornjače. U našem istraživanju izolirali smo *Aeromonas salmonicida* i *Aeromonas hydrofila,* no uzorkovane kornjače nisu pokazivale karakteristične kliničke znakove.

U dobivenim rezultatima obrisaka usne šupljine prevladavala je gram-negativna bakterijska flora s ukupno devet gram-negativnih bakterija od kojih je najzastupljenija bila bakterija *Proteus vulgaris,* što ne iznenađuje kao rezultat s obzirom da je *Proteus vulgaris* bakterija koja je sveprisutna i uvjetno patogena, a nalazimo ju u crijevima različitih životinja i čovjeka. Osim toga, *Proteus vulgaris* je često izolirana bakterija probavnog sustava gmazova, posebno zmija (NAGLIĆ i sur., 2005.). Gmazovi mogu biti nosioci oportunističkih patogenih mikroorganizama kao što su *Proteus vulgaris, Aeromonas hydrophila, Escherichia coli* i pritom nemoraju očitovati kliničke znakove zbog čega se smatraju kao potencijalni rezervoari infekcija za druge gmazove, životinje i ljude (SCHMIDT i sur., 2014.).

JHO i sur. (2011.) u svojem su istraživanju iz usne šupljine i kloake zmija izolirali brojne gram-negativne i gram-pozitivne bakterije, poput *Aeromonas* sp., *Escherichia coli, Enterobacter* sp, *Enterobacter cloacae, Staphylococcus* sp., *Staphylococcus xylosus, Bacillus* sp. i

Chryseobacterium indologenes koje imaju mogući zoonotski potencijal, posebice za imunokompromitirane pojedince. Bakterije izolirane u navedenom istraživanju pronašli smo u našem istraživanju i predstavljaju potencijalne uzročnike zoonoza.

Porodicu *Enterobacteriaceae* čine gram-negativne, oksidaza negativne i katalaza pozitivne bakterije i vrlo je proširena u prirodi diljem svijeta. Raširene su u tlu, otpadnim vodama, hrani, izmetu ljudi i različitih vrsta životinja. Pripada fiziološkoj mikroflori probavnog sustava mnogih vrsta životinja i ljudi. Neki serovarovi mogu uzrokovati različita patološka stanja u ljudi i životinja, poput upalnih promjena u crijevima (NAGLIĆ i sur., 2005.). Najveće količine izoliranih bakterija u našem istraživanju činile su bakterije iz ove porodice. Od predstavnika porodice izolirali smo bakteriju *Escherichia coli, Enterobacter* sp., *Enterobacter cloacae, Enterobacter gergoviae, Morganella morganii, Serratia fonticola* i *Proteus vulgaris*. Bakterije roda *Serratia* dio su fiziološke mikroflore usne šupljine u gmazova i često su izolirane iz lezija na koži te se pojavljuju prilikom traumatskih ozljeda poput ugriznih rana. Uzrokuje kožne infekcije i gnojne apscese koji zahtijevaju kiruršku obradu i terapiju antibioticima (MADER, 2006.).

Najviše izolata iz obrisaka usne šupljine i kloake dobivenih u našem istraživanju, činile su gram-pozitivne bakterije roda *Bacillus*. Prema dosadašnjim komparativnim istraživanjima i analizama, utvrđeno je da su bakterije roda *Bacillus* uobičajeni stanovnici probavnog sustava mnogih vrsta vodozemaca, gmazova, ptica i sisavaca. U nekih gmazova, primjerice zmija, ova bakterija može naseliti njihov probavni sustav putem mikroflore pojedenog plijena (JUINAD i sur., 2014.). Od prisutnih bacila u kloaki i usnoj šupljini najčešće smo identificirali *Bacillus cereus*.

Gram-pozitivne bakterije vrlo su raširene u prirodi, većinom su uvjetno patogene, a predstavljaju fiziološku mikrofloru na koži i u probavnom sustavu ljudi i životinja (NAGLIĆ i sur., 2005.). U istraživanju smo iz obrisaka usne šupljine i kloake izolirali gram-pozitivne bakterije *Micrococcus* spp., *Micrococcus* sp., *Micrococcus luteus, Staphylococcus* spp. i *Streptococcus* sp. Od vrsta koje pripadaju rodu Staphylococcus identificirali smo vrste Staphylococcus sciuri i Staphylococcus xylosus. Prema dosadašnjim istraživanjima utvrđeno je kako navedene bakterije, zajedno s raznim drugim bakterijama, kao što su *Aeromonas aerogenes, Aeromonas aerophila, Proteus* sp., *Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens,*

Mycobacterium i *Clostridium*, kod gmazova uzrokuju stomatitis (KAPLAN i JEREB, 1995.). U našem istraživanju vidljivih kliničkih znakova stomatitisa nismo utvrdili. Prema MAEDA i sur. (2008.) koagulaza negativni stafilokoki poput *Staphylococcus kloosii, Staphylococcus saprophyticus, Staphylococcus sciuri, Staphylococcus succinus* i *Staphylococcus xylosus*, najčešće su izolirane bakterije iz obrisaka usne šupljine, kože i kloake u gmazova.

Prema dosadašnjim istraživanjima zabilježene su različite vrste gljivičnih oboljenja u gmazova držanih u zatočeništvu (JACOBSON i sur., 2000.). Gljivice iz roda *Mucor* nalaze se prirodno u tlu i biljkama. Kako uglavnom ne rastu pri 37 ˚C stoga pretežno uzrokuju infekcije u ektotermnih životinja primjerice žaba i drugih vodozemaca (NAGLIĆ i sur., 2005.). Nalaz izolata gljivice u našem istraživanju izražen je u vrlo visokom postotku (usna šupljina 36.6% i kloaka 70%), no životinje koje smo uzorkovali nisu pokazivale znakove kliničkog oboljenja koje uzrokuje ova gljivica.

Candida albicans je gljivica koja se fiziološki nalazi na koži i sluznicama ljudi i životinja, posebice želučano-crijevnoj i mokraćno-spolnoj sluznici. Nalazimo ih još u tlu i vodi. Prilikom određenih, nepovoljnih uvjeta te gljivice uzrokuju bolest kandidijazu od koje obolijevaju različite životinje, posebice mlade ptice, morski sisavci i gmazovi. Pojavi bolesti pogoduje dugotrajna uporaba antibiotika i kortikosteroida, imunosupresija i loši higijenski uvjeti držanja (NAGLIĆ i sur., 2005.*). Candida, Mucor i Cladosporium* su opisani kao uzročnici gljivičnih upala pluća u gmazova (MADER, 2006.). U našem smo istraživanju izolirali slične gljivice koje su prethodno navedene, ali nismo uočili kliničke promjene koje bi ove gljivice izazvale u kornjača.

Aspergilus spp. je ubikvitarni saprofit i može uzrokovati bolesti koje ugrožavaju život ptica, sisavaca i ljudi. Pojava navedene gljivice zabilježena je u dosadašnjim istraživanjima u Leopard kameleona (*Furcifer pardalis*) uz razvoj periodontalnog osteomijelitisa (MADER, 2006.). Najveću zastupljenost izolata *Aspergilus fumigatus* u našem smo istraživanju pronašli u obriscima kloake, ali nismo pronašli kliničke znakove oboljenja kod kornjača. Vrste *Aspergilus niger* i *Aspergilus fumigatus* u dosadašnjim su istraživanjima u gmazova izolirane iz kožnih i diseminiranih infekcija. Kožne lezije najčešće nastaju kao posljedica invazije na zdravo tkivo oštećeno traumom. Unatoč pojavljivanju pojedinačnih slučajeva površinske aspergiloze gmazova rijetki su slučaji sistemske aspergiloze. Neadekvatni uvjeti i zatočeništvo važni su

predisponirajući čimbenici koji dovode do oportunističke infekcije u gmazova (SEYEDMOUSAVI i sur., 2015.).

Za razliku od ostalih kralježnjaka gljivična oboljenja u gmazova mogu biti primarnog ili sekundarnog uzorka. Gljivice izolirane iz lezija kože u gmazova uključuju rodove *Paecilomyces, Penicillium, Fusarium, Geotrichium, Mucor* i *Aspergillus* te mogu biti potaknute imunokompromitirajućim uvjetima kao što je neadekvatno držanje, nepovoljne temperature i loši higijenski uvjeti (SEYEDMOUSAVI i sur., 2013.). Dobivenim istraživanjem izolirali smo po dva izolata u usnoj šupljini i kloaci što odgovara dosadašnjim spoznajama o prisutnosti ove gljivice u gmazova.

Gljivica *Rhodotorula* spada u porodicu *Sporidiobolaceae.* Smatra se kao oportunistički etiološki čimbenik posebice u imonokompromitiranih pacijenata. Gljivica tvori mukoidne kolonije s karotenoidnim pigmentom te je široko rasprostranjena u okolišu (TUON i COSTA, 2008.). Zbog široke rasprostranjenosti očekivan je nalaz izolata gljivice iz obrisaka kloake.

Uzorci obrisaka iz usne šupljine i kloake bili su negativni na bakterije roda *Salmonella* i *Chlamydia*.

Dobivenim istraživanjem možemo zaključiti da su kornjače roda *Trachemys* nosioci brojnih fizioloških gram-negativnih i gram-pozitivnih bakterija, od kojih su prevladavale gram-negativne bakterije. Većina izolata pripada u mikroorganizme koje nalazimo u prirodnom okruženju te probavnom sustavu kornjača i drugih gmazova i potencijalni su uzročnici infekcija, posebice u imunokompromitiranih životinja. Opisane bakterije smatraju se oportunističkim patogenima i za ljude što je od značaja za osobe koje su u kontaktu s kornjačama.

6. ZAKLJUČCI

1. Mikroflora probavnog sustava kornjača roda *Trachemys* sastoji se od mješovite kulture gram-negativnih i gram-pozitivnih bakterija. U istraživanju smo dobili veću zastupljenost izolata gram-negativnih bakterija u usnoj šupljini i kloaci.

2. Većina izoliranih bakterija pripada ubikvitarnim mikroorganizmima koji su uobičajene u okolišu u kojem obitavaju slatkovodne kornjače.

3. Dobiveni izolati opisani su kao oportunistički patogeni za ljude i gmazove te postoji mogućnost infekcije u imunokompromitiranih ljudi i kornjača.

4. Izolati gljivica opisani su kao normalni stanovnici probavnog sustava gmazova, a potencijalno također mogu biti uzročnicima bolesti u imunokompromitiranih životinja i ljudi.

5. Podaci o izoliranim bakterijama mogu biti korisni u eventualnom liječenju ljudi koji se inficiraju putem kontakta i manipulacije s kornjačama, no mogu biti korisni i za liječenje oboljelih kornjača.

7. LITERATURA

1. ANONYMUS (2013): Zakon o zaštiti prirode (NN 80/2013).

2. BRANCH, W.R. (1996): Homopus signatus. The IUCN Red List of Threatened Species. e.T10241A3184678.http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.1996.RLTS.T10241A3184678.en

3. BRINGSØE, H. (2006): NOBANIS – Invasive Alien Species Fact Sheet – Trachemys scripta. http://www.nobanis.org/files/factsheets/Trachemys_scripta.pdf., Pristupljeno 20. lipnja 2017.

4. BURGER, J. (2009): Red-eared slider turtles (Trachemys scripta elegans). Fish 423. http://depts.washington.edu/oldenlab/wordpress/wp-content/uploads/2013/03/Trachemys-scripta-elegans_Burger.pdf

5. CHEN C. Y., W. C. CHEN, S. C. CHIN, Y. H. LAI, K.C. TUNG, C.S CHIOU, Y. M. HSU, C. C. CHANG (2010): Prevalence and antimicrobial susceptibility of salmonellae isolates from reptiles in Taiwan. J. Vet. Diagn. Invest. 22, 44–50.

6. CHITTY, J., A. RAFTERY (2013): Biology. In: Essentials of Tortoise Medicine and Surgery. WileyBlackwell, pp 27-34.

7. CONNOR, M. J. (1992): The red-eared Slider, Trachemys scripta elegans. Tortuga Gazette 28, 1-3.

8. DIVERS, S. J., D. R. MADER (2005): Biology and Husbandry. In: Reptile Medicine and Surgery (Boyer, T. H., D. M. Boyer, Eds.), Elseviers Saunders, pp. 78-100.

9. DIPINETO, L., T. P. RUSSO, M. CALABRIA, L. DE ROSA, M. CAPASSO, L. F. MENNA, L. BORRELLI, A. FIORETTI (2013): Oral flora of Python regius kept as pets. Lett. Appl. Microbiol. DOI: 10.1111/lam.12214

10. DUBOIS, A., R. BOUR (2010): The distinction between family-series and class-series nomina in zoological nomenclature, with emphasis on the nomina created by Batsch (1788, 1789) and on the higher nomenclature of turtles. Bonn zool. bull. 57, 149–171.

11. ECKERT, K. L., C. LUGINBUHL (1988): Death of a Giant. Mar. Turtle. Newsl. 43, 2-3.

12. ERNST, C. H., R. W. BARBOUR, J. E. LOVICH (1994): Turtles of the United States and Canada. (Dutro, N. P., Ed.), Smithsonian Institution Press, Washington and London, pp 203–204.

13. FICETOLA, G. F., F. DE BERNARDI. (2006): Is the European "pond" turtle Emysorbicular is strictly aquatic and carnivorous? Amphibia-Reptilia, 27, 445–447.

14. GIOIA-DI CHIACCHIO, R., G. N. PENIDO JR., C.A.,IGAYARA DE SOUZA, F.E. S. PRIOSTE, M. S. PRADO, T. KNOBL, M. C. MENAO, E. R.MATUSHIMA (2014): Enterobacterial colonization in captive red-eared sliders (Trachemys scripta elegans). J. Zoo Wildlife Med. 45, 919-21.

15. GLOBAL INVASIVE SPECIES DATABASE (2017): Species profile: Trachemys scripta elegans.,http://www.iucngisd.org/gisd/speciesname/Trachemys+scripta+elegans, Pristupljeno 22. lipnja 2017.

16. GRADY, S.P.O., M. MORANDO, L. ÁVILA, M. D. DEARING (2005): Correlating dietand digestive tract specialization: Examples from the lizard family Liolaemidae. Zoology 108, 201-210.

17. GRISMER, L. L., H. GREENE (2002): Amphibians and Reptiles of Baja California, Including Its Pacific Islands and the Islands in the Sea of Cortés. 1st ed., University of California Press.

18. HOFF, G L., F. L. FRYE, E. R. JACOBSON (1984): Diseases of amphibians and reptiles. Plenum Press, New York, . 49-57, 183-205.

19. JACOBSON, E. R., L. K. MAXWELL, J. L. CHEATWOOD (2000): Mycotic diseases of reptiles. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine. DOI: 10.1053/AX.2000.4621

20. JELIĆ, D., M. KULJERIĆ, T. KOREN , D. TREER, D. ŠALAMON, M. LONČAR, M. PODNAR-LEŠIĆ, B. JANEV-HUTINEC, T. BOGDANOVIĆ S. MEKINIĆ, K. JELIĆ (2012a): Uvod. U: Crvena knjiga vodozemaca i gmazova Hrvatske. Ministarstvo zaštite okoliša i prirode, Zagreb, Str. 10-44.

21. JELIĆ, D., M. KULJERIĆ, T. KOREN , D. TREER, D. ŠALAMON, M. LONČAR, M. PODNAR-LEŠIĆ, B. JANEV-HUTINEC, T. BOGDANOVIĆ S. MEKINIĆ, K. JELIĆ (2012b): Gmazovi U: Crvena knjiga vodozemaca i gmazova Hrvatske. Ministarstvo zaštite okoliša i prirode, Zagreb, Str. 123-136.

22. JELIĆ, D., M. KULJERIĆ, T. KOREN , D. TREER, D. ŠALAMON, M. LONČAR, M. PODNAR-LEŠIĆ, B. JANEV-HUTINEC, T. BOGDANOVIĆ S. MEKINIĆ, K. JELIĆ (2012c): Gmazovi U: Crvena knjiga vodozemaca i gmazova Hrvatske. Ministarstvo zaštite okoliša i prirode, Zagreb, Str. 147-166.

23. JHO, Y. S., D. H. PARK, J. H. LEE, S. Y. CHA, J. S. HAN (2011): Identification of bacteria from the oral cavity and cloaca of snakes imported from Vietnam. Lab. Anim. Res. 27, 213-217.

24. JOYCE, W. G. (2007): Phylogenetic relationships of Mesozoic turtles. Bulletin of the Peabody Museum of Natural History 48, 3–102.

25. JUNAID, I., M. SAGHEER, N. TABASSUM, R. SIDDIQUI, N.A. KHAN (2014): Culturable Aerobic and Facultative Anaerobic Intestinal Bacterial Flora of Black Cobra (Naja naja karachiensis) in Southern Pakistan. ISRN Veterinary Science. DOI:10.1155/2014/878479

26. KAPLAN, M., R. JEREB (1995): Ulcerative Stomatitis (Mouthrot) in Reptiles. J, of Wildlife Rehab. 18, 13.

27. LOEHR V.J.T. (2008): The Ecology of the World's Smallest Tortoise, Homopus signatus signatus: Effects of Rainfall. Ph.D. thesis, University of the Western Cape, Bellville.

28. LUKAČ, M., K. PEDERSEN, E. PRUKNER-RADOVČIĆ (2015): Prevalence of Salmonella in captive reptiles from Croatia. J. Zoo Widlife Med. 46, 234-240.

29. LUKAČ, M., D. HORVATEK TOMIĆ, Z. MANDAC, S. MIHOKOVIĆ, E. PRUKNER-RADOVČIĆ (2017): Oral and cloacal aerobic bacterial and fungal flora of free-living four-lined snakes (Elaphe quatuorlineata) from Croatia. Vet. arhiv 87, 351-361.

30. MAEDA, Y., T. STANLEY, J. STIRLING, M. GRIFFITHS, A. CALVERT, J. S. ELBORN, B. C. MILLAR, C.E. GOLDSMITH, J. RENDALL, A. LOUGHREY, P.J.ROONEY, E. MOORE (2010): No evidence of transmission of bacteria between reptiles and a CF patient- a case report of a young adult CF patient and reptiles. Zoo. Pub. Health, 57, e47 – e53

31. MADER, D.R. (2006): Medicine. U: Reptile Medicine and Surgery. Saunders Elsevier, St. Louis, MO, pp 217-239.

32. MADER, D.R. (2006): Gastrointestinal anatomy and physiology. In: Reptile Medicine and Surgery. (Diaz-Figueroa, O., M. A. Mitchell, Eds.) Saunders Elsevier, pp 145- 163.

33. MASIN, S., A. BONARDI, E. PADOA-SCHIOPPA, L. BOTTONI, G. F. FICETOLA (2014): Risk of invasion by frequently traded freshwater turtles. Biol. Invasions. 16, 217–231.

34. NAGLIĆ, T., D. HAJSIG, J. MADIĆ, LJ. PINTER (2005). Veterinarska mikrobiologija: specijalna bakteriologija i mikologija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatsko mikrobiološko društvo, Zagreb.

35. PASMANS, F., F. VAN IMMERSEEL, W. VAN DEN BROECK, E.BOTTREAU, P. VELGE, R. DUCATELLE, F. HASEBROUCK (2003): Interactions of Salmonella enterica subsp. enterica serovar Muenchen with Intestinal Explants of the Turtle Trachemys scripta scripta. J. of Comp. Pathology 128, 119-126.

36. PECOR, K (2003): Emydidae (On-line). Animal Diversity Web. http://animaldiversity.org/accounts/Emydidae/, Pristupljeno 4. lipnja 2017.

37. POLO-CAVIA, N., P. LOPEZ, J. MARTIN (2014): Interference competition between native Iberian turtles and the exotic Trachemys scripta. Basic and Applied Herpetology, 28, 5-20.

38. RICHARDS, J. M., J. D. BROWN, T. R. KELLY, A. L. FOUNTAIN, J. M. SLEEMAN (2004): Abscence of detectable Salmonella cloacal shedding in free-living reptiles on admission to the Wildlife center of Virginia. J. Zoo Widlife Med. 35, 562-563.

39. RHODIN, A. G. J., P. PAUL VAN DIJK, J. B. INVERSON, H. B. SHAFFER, R. BOUR, A. G. J. , RHODIN (2010): Turtles of the World, 2010 Update: Annotated Checklist of

Taxonomy, Synonymy, Distribution and Conservation Status. Chelonian Research Monographs, No.5, 85-164.

40. ROONEY, J. E. MOORE (2008): No evidence of transmission of bacteria between reptiles and a CF patient--a case report of a young adult CF patient and reptiles. Zoonoses Public Health. 57, e47-53. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2009.01293.x.

41. SARRIA, J.C., A.M. VIDAL, R.C. KIMBROUGH (2001): Infections Caused by Kluyvera Species in Humans. Clin. Infect. Dis. 33, e69-e74.

42. SEYEDMOUSAVI, S., J. GUILLOT, G. S. HOOG (2013): Phaeohyphomycoses, Emerging opportunistic diseases in animals, Clin. Microbiol. Rev. 26, 19 – 35.

43. SEYEDMOUSAVI, S., J. GUILLOT, P. ARNE, G. S. DE HOOG, J. W. MOUTON, W. J. G. MELCHERS, P. E. VERWEIJ (2015): Aspergillus and aspergilloses in wild and domestic animals: a global health concern with parallels to human disease. Med. Mycol. 53,765–797. DOI: 10.1093/mmy/myv067

44. SCHMIDT, V., R. MOCK, E. BURGKHARDT,A. JUNGHANNS,F. ORTLIEB, I. SZABO, R. MARSCHAANG, I. BLINDOW, M.E. KRAUTWALD-JUNGHANNS (2014): Cloacal Aerobic Bacterial Flora and Absence of Viruses in Free-Living Slow Worms (Anguis fragilis), Grass Snakes (Natrix natrix) and European Adders (Vipera berus) from Germany. Ecohealth. 11, 571-580.

45. SHANE S. M., R. GILBERT, K. S. HARRINGTON (1990): Salmonella colonization in commercial pet turtles (Pseudemys scripta elegans). Epidemiol. Infect. 105, 307–316.

46. SOMMA, L. A., A. FOSTER, P. FULLER (2017): Trachemys scripta. USGS Nonindigenous Aquatic Species Database, Gainesville, FL. https://nas.er.usgs.gov/queries/FactSheet.aspx?speciesID=1259, Revision Date: 10/28/2009

47. SOMMA, L. A., A. FOSTER, P. FULLER (2009): Trachemys scripta elegans. USGS Nonindigenous Aquatic Species Database, Gainesville, FL. http://nas.er.usgs.gov/queries/FactSheet.asp?speciesID=126, Preuzeto 20. lipnja 2017.

48. TUON, F. F., SILVIA E. COSTA (2008): Rhodotorula infection. A systematic review of 128 cases from literature. Rev. Iberoam. Micol. 25, 135-140.

49. VAN DIJK, P.P., HARDING J., HAMMERSON, G. A. (2011): Trachemys scripta. (errata version published in 2016) The IUCN Red List of Threatened Species 2011: e.T22028A97429935.http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-1.RLTS.T22028A9347395.en., Pristupljeno 22 lipnja 2017.

50. VERGLES RATAJ, A., R. LINDTER-KNIFIC,K. VLAHOVIĆ, U. MAVRI, A. DOVČ (2011): Parasites in pet reptiles. Acta Vet. Scandinavica. DOI: 10.1186/1751-0147-53-33.

51. VITT, L. J., J. P. CALDWELL (2014): Herpetology. An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles. 4th ed., Elsevier, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxfors,Paris, San Diego, San Francisco, Sydney, Tokyo.

52. WOOD S. C., R. N. McCASHION, W. H. LYNCH (1986): Multiple Low – Level Antibiotic Resistance in Aeromonas salmonicida. Antimicrobial Agents and Chemoterapy 19, 992-996.

8. SAŽETAK

Gastrointestinalna mikroflora gmazova sastoji se od aerobnih i anaerobnih, gram-negativnih i gram-pozitivnih bakterija, gljivica i protozoa. Većina izolata opisani su kao oportunistički patogeni koji mogu izazvati bolest u imunokompromitiranih ljudi i životinja. Podaci o bolestima koje kornjače roda *Trachemys* mogu proširiti na druge populacije kornjača nisu poznate, no poznato je da mogu biti rezervoar bakterija roda *Salmonella* te su zbog toga prijetnja zdravlju ljudi, osobito imunokompromitiranih pojedinaca. Osim salmonela, poluvodene kornjače mogu u svom probavnom sustavu nositi i brojne druge oportunističke bakterije, koje pod određenim okolnostima mogu uzrokovati bolest u ljudi i životinja.

Svrha ovog istraživanja bila je steći detaljniji uvid u mikrofloru probavnog sustava kornjača roda *Trachemys,* te dobiti što više podataka o njezinom sastavu i eventualnim mikroorganizmima koji mogu naštetiti zdravlju ljudi i autohtonih populacija kornjača.

U tu svrhu,obrisci usne šupljine i klokake od ukupno 30 kornjača uzeti su nakon kliničkog pregleda i manuelne fiksacije životinja. Uzorkovane kornjače, ulovljene su u bari nedaleko centra grada Zagreba, na području Zoološkog vrta. Obrisci su obrađeni u mikrobiološkom laboratoriju Zavoda za bolesti peradi s klinikom Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Obrisci su nasađeni na neutralni agar i krutu selektivnu hranjivu podlogu, te potom inkubirani 24 sata pri sobnoj temperaturi. Bakterije su identificirane bojanjem po Gramu, testom tvorbe katalaze, citokrom oksidaze i API biokemijskim testovima. Za dokaz gljivica uzorci su nasađeni na Sabouraudov agar i inkubirani pet dana na sobnoj temperaturi.

Iz obrisaka usne šupljine kornjača izolirano je ukupno 15 različitih vrsta bakterija, od čega je devet vrsta gram-negativnih (*Proteus vulgaris, Alcaligenes, faecalis, Enterobacter cloacae, Morganella morganii, Aeromonas hydrophila, Serratia fonticola, Escherichia coli, Chryseobacterium indologenes, Brevundimonas vesicularis*) i šest vrsta gram-pozitivnih bakterija (*Bacillus* sp., *Micrococcus* spp., *Micrococcus luteus, Staphylococcus* sp., *Staphylococcus xylosus, Staphylococcus sciuri*).

Iz obrisaka kloake kornjača izolirano je ukupno 19 različitih vrsta bakterija, od kojih je 11 gram-negativnih (*Proteus vulgaris, Enterobacter cloacae, Alcaligenes faecalis, Aeromonas hydrophila, Chryseobacterium indologenes, Aeromonas salmonicida, Morganella morganii,*

Enterobacter gergoviae, Kluyvera ascorbata i *Citrobacter freundii*) i osam gram-pozitivnih bakterija (*Bacillus* sp., *Micrococcus luteus, Staphylococcus* sp. *Streptococcus* sp., *Bacillus cereus, Micrococcus* sp., *Staphylococcus xylosus* i *Staphylococcus sciuri*). Iz obrisaka usne šupljine i kloake identificirane su gljivice *Mucor sp., Aspergillus fumigatus, Aspergillus niger, Aspergillus flavus, Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Candida albicans* i *Rhodotorula rubra.*

Većina izoliranih bakterija i gljivica predstavljaju normalnu mikrofloru staništa poluvodenih kornjača i njihovog probavnog sustava, no ipak mogu biti i potencijalni patogeni u životinja koje su ozlijeđene ili pod stresom, te imunokompromitiranih ljudi. Informacije o mikroflori probavnog sustava ove vrste kornjača uvelike mogu rasvjetliti i njihovu invazivnost, te utjecaj na autohtone populacije kornjača.

9. SUMMARY

Microflora of the dygestive system of freshwater turtles *Trachemys* sp. near the center of Zagreb

Gastrointestinal microflora of reptiles consists of aerobic and anaerobic, gram-negative and gram-positive bacteria, fungi and protozoa. Most isolates are described as opportunistic pathogens that can cause disease in immunocompromised humans and animals. Data on the diseases of the Trachemys sp. that can be extended to other turtle populations is not known but it is known that they can be reservoars of Salmonella and are therefore a threat to the health of humans, particular immunocompromised individuals. Apart from Salmonella turtles also carry numerous other opportunistic bacteria in their digestive system, which under certain circumstances can cause a disease in humans and animals. The purpose of this study was to gain a more detailed insight into the microbial digestive tract system of Trachemys sp. and to obtain as much information as possible about its composition and possible microorganisms that could harm the health of humans and native turtle populations. For this purpose, the swabs of mouth and cloaca were taken from 30 turtles after physical examination and manual fixation. Turtles are caught in a pond near the center of Zagreb, in the Zoo area. Samples were analyzed in the laboratory of the Department of Avian Diseases with Clinic on Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb. Swabs were plated on Nutrient agar and Brilliant green agar and incubated for 24 hours at room temperature. The bacteria were identified by Gram staining, catalase and cytochrome oxidase tests and API biochemical tests. Samples for fungi identifications were plated on Sabouraud agar and incubated for five days at room temperature. From the swabs taken from oral cavity we isolated 15 different types of bacteria from which were nine gram-negative (*Proteus vulgaris, Alcaligenes, faecalis, Enterobacter cloacae, Morganella morganii, Aeromonas hydrophila, Serratia fonticola, Escherichia coli, Chryseobacterium indologenes* and *Brevundimonas vesicularis*) and six gram-positive bacterias (*Bacillus* sp., *Micrococcus* spp., *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus* sp., *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus sciuri*). From the swabs taken from cloaca we isolated 19 different types of bacteria from which 11 were gram-negative (*Proteus vulgaris, Enterobacter cloacae, Alcaligenes faecalis, Aeromonas hydrophila, Chryseobacterium indologenes, Aeromonas salmonicida, Morganella morganii,*

Enterobacter gergoviae, Kluyvera ascorbata and *Citrobacter freundii*) and eight were gram-positive bacterias (*Bacillus* sp., *Micrococcus luteus, Staphylococcus* sp. *Streptococcus* sp., *Bacillus cereus, Micrococcus* spp., *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus sciuri*). Most of the isolated bacteria and fungi represent normal flora of the environment and the gastrointestinal system of fresh water turtles, but may be potential pathogens in animals that are injured or stressed and immunocompromised humans. Information on the microflora of the digestive system of this type of turtle can greatly clarify their invasiveness as well as their impact on native turtle population.

10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 08.03.1985. godine u Karlovcu gdje sam završila osnovnu školu Dubovac i osnovnu glazbenu školu Karlovac, smjer violina. Nakon završetka osnovne škole upisala sam srednju školu, Opća gimnazija Karlovac, koju sam završila 2003. godine. Studij Veterinarske medicine Sveučilišta u Zagrebu upisala sam u jesen 2005. godine. Sudjelovala sam na Drugom kongresu studenata veterinarske medicine, održanog u lipnju 2007. godine na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

U slobodno vrijeme aktivno se bavim rekreativnim ronjenjem i kao članica Kluba za podvodne aktivnosti Karlovac, sudjelujem u brojnim ekološkim akcijama diljem Hrvatske.