

Izdvajanje i molekularna karakterizacija gljive vrste *Macrorhabdus ornithogaster* u uzgojima ptica kućnih ljubimaca na području Republike Hrvatske

Tominac, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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:178:163351>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-10**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu

Veterinarski fakultet

ANA TOMINAC

**Izdvajanje i molekularna karakterizacija gljive vrste *Macrorhabdus ornithogaster* u
uzgojima ptica kućnih ljubimaca na području Republike Hrvatske**

Diplomski rad

Zagreb, 2018.

Naziv zavoda: Zavod za bolesti peradi s klinikom

Predstojnik: doc. dr. sc. Željko Gottstein

Mentori: doc. dr. sc. Željko Gottstein

doc. dr. sc. Danijela Horvatek Tomić

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Prof. dr. sc. Estella Prukner-Radovčić
2. Dr. sc. Gordana Nedeljković
3. Doc. dr. sc. Željko Gottstein

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA.....	2
2.1. ETIOLOGIJA	2
2.2. PRIRODNI DOMAĆINI	2
2.3. EPIZOOTIOLOGIJA	3
2.4. KLINIČKA SLIKA	3
2.5. PATOLOGIJA	4
2.6. DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA	4
2.7. DIJAGNOSTIKA.....	4
2.8. PROFILAKSA I LIJEČENJE	6
3. MATERIJALI I METODE	8
3.1. UZORCI FECESA I POSTUPAK IZDVAJANJA DNA	8
3.2. KORIŠTENE POČETNICE I PCR REAKCIJA.....	8
4. REZULTATI.....	10
5. RASPRAVA	12
6. ZAKLJUČCI.....	13
7. LITERATURA.....	14
8. SAŽETAK.....	17
9. SUMMARY	18
10. ŽIVOTOPIS	19

1. UVOD

Makrorabdioza (megabakterioza) je akutna gljivična infekcija, teško izlječiva te u poodmaklom stadiju često sa smrtnim ishodom. Od nje najčešće obolijevaju ptice kućni ljubimci poput kanarinaca, australskih papiga tigrice te nimfi.

Uzročnik *Macrorhabdus ornithogaster*, veliki, gram pozitivni, štapićasti mikroorganizam, prisutan je u probavnom sustavu ptica. Dugo vremena ovaj se uzročnik smatrao bakterijom te je tek nedavno potvrđeno da se radi o gljivici nazvanoj *Macrorhabdus ornithogaster*.

Bolest se dijagnosticira na temelju anamneze, kliničkih znakova i dokazom uzročnika bilo mikroskopskom pretragom ispirka ili obriska voljke te izmeta ptica. Također, kako bi se bolje pratilo proširenje ovog uzročnika uobičajeno se koriste i molekulske probe, poput PCR. Upravo na taj način, a kao posljedica intermitentnog širenja uzročnika izmetom, moguće je dokazati njegovo prisustvo kada to mikroskopski nenijemoguće.

Praćenjem pacijenata u Ambulanti za ptice Zavoda utvrđena je značajna pojavnost ove bolesti, naročito u tigrice i vrapčarki. Kako bi se utvrdio uzrok visokoj učestalosti ove bolesti potrebno je provesti monitoring nad uzgojima i trgovinama ptica kućnih ljubimaca.

Cilj diplomskog rada bilo je epizootiološko istraživanje temeljeno na izdvajanju i molekularnoj karakterizaciji gljive vrste *Macrorhabdus ornithogaster* u uzgojima i trgovinama ptica kućnih ljubimaca na području Republike Hrvatske.

2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA

2.1. Etiologija

Megabakterija je anamorfna gljiva iz skupine askomiceta koja se može pronaći u istmusu želuca između žljezdanog i mišićnog želuca ptica (TOMASZEWSKI i sur., 2003.).

Sve do 2003. bila je prepoznata pod nazivom „*Megabacteria*“ dok se naposljetku nije utvrdilo da se radi o gljivici koja je nazvana *Macrorhabdus ornithogaster* (TOMASZEWSKI i sur., 2003.). To je velika, Gram pozitivna struktura, širine 1-5 µm i duljine 20-90 µm. *M. ornithogaster* ostaje pozitivna PAS-om (Periodic Acid Schiff) i tehnikama srebrnog bojenja (HOPPEs, 2012.).

M. ornithogaster kao anamorfna askomiceta jedini je predstavnik svoga roda (TOMASZEWSKI i sur., 2003.).

2.2. Prirodni domaćini

Proširena je širom svijeta i pojavljuje se kod velikog broja kaveznih ptica (TSAI i sur., 1992.; FILIPPICH i PARKER, 1993.; MARTINS i sur., 2006.).

M. ornithogaster ima jedinstvenu morfologiju, karakteristike bojenja i postojanje u histološkoj sekciji istmusa želuca (VAN HERCK i sur., 1984.).

Bolest je zabilježena u divljih ptica i u ptica koje se koriste u intenzivnoj proizvodnji, kao što su nojevi i kokoši (MULTU i sur., 1997.).

Do danas je bolest zabilježena u ptica na gotovo svim kontinentima (FILIPPICH i PARKER, 1993.; PIASECKI i sur., 2012.). Moguće je da se bolest pojavljivala kod velikog broja različitih vrsta ptica, a da uopće nije bila zabilježena. Ipak, bolest se najčešće pojavljuje kod vrsta koje su uzgojene u zatočeništvu poput papiga, kanarinaca i zeba. Upravo zbog velike proširenosti u uzgojima kavezno držanih ptica, olakšano je širenje ove bolesti. Bolest se još pojavljuje i kod divljih ptica u Europi i Australiji (FILIPPICH i PARKER, 1993., DONELEY i sur., 2012.).

2.3. Epizootiologija

Glavni izvor infekcije je inficirana ptica. Mnoge ptice nikad ne pokazuju znakove bolesti, ali zato konstantno šire uzročnika (PHALEN, 2005.; KHEIRANDISH i SALEHI, 2011.).

Većina infekcija dolazi putem fekalno oralne kontaminacije od strane bolesnih ili subklinički zaraženih ptica (PHALEN, 2005.).

M. ornithogaster može preživjeti u okolišu u mediju na sobnoj temperaturi minimalno 24 sata. Koliko uzročnik može preživjeti u fecesu u prirodi nije poznato (BRADLEY i sur., 2005.).

Pretpostavlja se da kolonizacija istmusa želuca počinje odmah nakon izlaganja uzročniku. Brzi rast broja megabakterija može se detektirati u eksperimentalnim uvjetima u periodu od 2 tjedna od početka infekcije. Vrijeme između infekcije i razvoja prvih znakova bolesti, ako do njih dođe, može biti od nekoliko tjedana do nekoliko godina. Papige inficirane s *M. ornithogaster* ponekad ne pokazuju znakove bolesti dok ne navrše 2 ili 3 godine dok se primjerice kod noja očituje već u ranoj fazi kod pilića (BAKER, 1985.; SIMPSON, 1992.; FILLIPICH i PARKER, 1994.).

Morbiditet kod kavezno držanih ptica može iznositi od nekoliko posto do 100% (FILIPPICH i HERDRIKZ, 1998.; PHALEN, 2005.).

Ptice koje imaju kliničke simptome, a koji se ne tretiraju, ugibaju. Razina mortaliteta unutar jata može jako varirati (BAKER, 1985.; HOPPES, 2012.).

2.4. Klinička slika

Klinički znakovi ove bolesti su nespecifični i upućuju na kroničnu bolest. Bolest je poznata pod nazivom „*going light syndrome*“ ili sindrom polaganog slabljenja (HENDERSON i sur., 1988.). Progresivan gubitak kilograma, usprkos dobrom apetitu, javlja se kroz dulji vremenski period (12-18 mjeseci). Najčešći simptomi bolesti su depresija, regurgitacija, diareja te maldigestija.

U završnim fazama vidljiva je melena te posljedično nastupa smrt.

Akutni oblik bolesti uzrokovan s *M. ornithogaster* vidljiv je kod tigrica kod kojih naizgled zdrava ptica postane depresivna i ugiba u roku od 24 sata (HOPPES, 2012.).

2.5. Patoanatomski nalaz

Često je jedini znak kliničke patologije leukocitoza. Anemija je često vezana uz kronični tijek bolesti, kao i pojava hipoproteinemije (HENDERSON i sur., 1988.).

U većine ptica nalazi se atrofija pektoralnih mišića. Čest nalaz u papiga i zeba je zadebljala stjenka žljezdanog želuca i istmusa te povećana količina sluzi u lumenu žljezdanog želuca. U kroničnoj fazi bolesti dolazi do ulceracija sluznice žljezdanog želuca te stanjenja stjenke (VAN HERCK i sur., 1984.; BAKER, 1985.; SCHMIDT i sur., 2003.).

Mikroskopski najbolji rezultati dobivaju se bojenjem po Gramu otiska žljezdanog želuca. U akutnoj fazi najčešće se vidi veliki broj stanica *M. ornithogaster*, dok se u kroničnoj, uz stanice, vidi i veliki broj eritrocita. Ovo bojenje koristi se i za preparate fecesa, ali sa puno manje stanica *M. ornithogaster* (VAN HERCK i sur., 1984.; BAKER, 1985.; SCHMIDT i sur., 2003.).

2.6. Diferencijalna dijagnoza

Diferencijalna dijagnoza uključuje trihomonijazu, kandidijazu, bakterijski ventrikulitis, otrovanje teškim metalima, neoplazije te dilataciju žljezdanog želuca (HOPPES, 2012.).

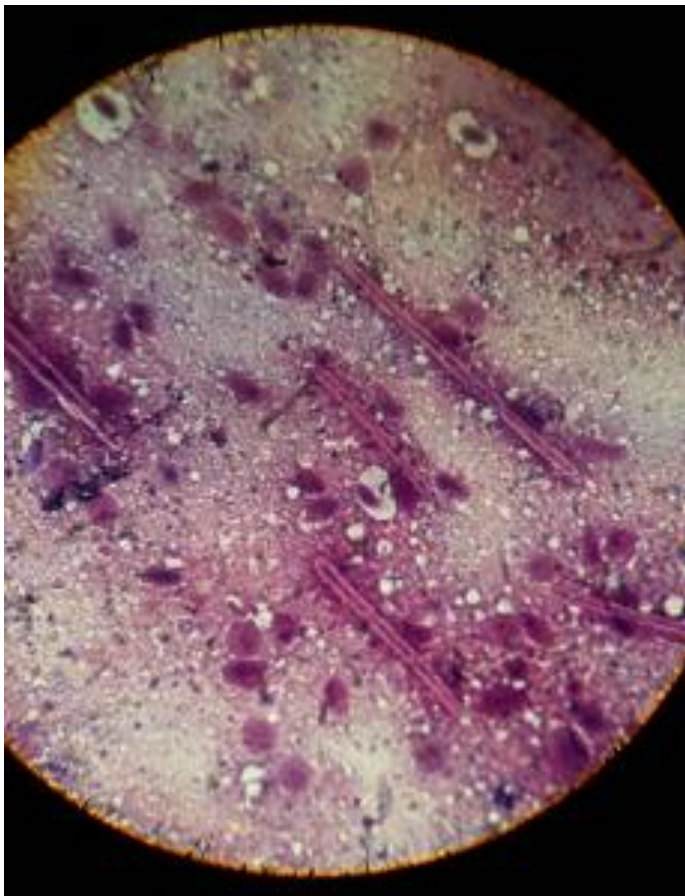
2.7. Dijagnostika

Postaviti dijagnozu za života može biti veliki izazov.

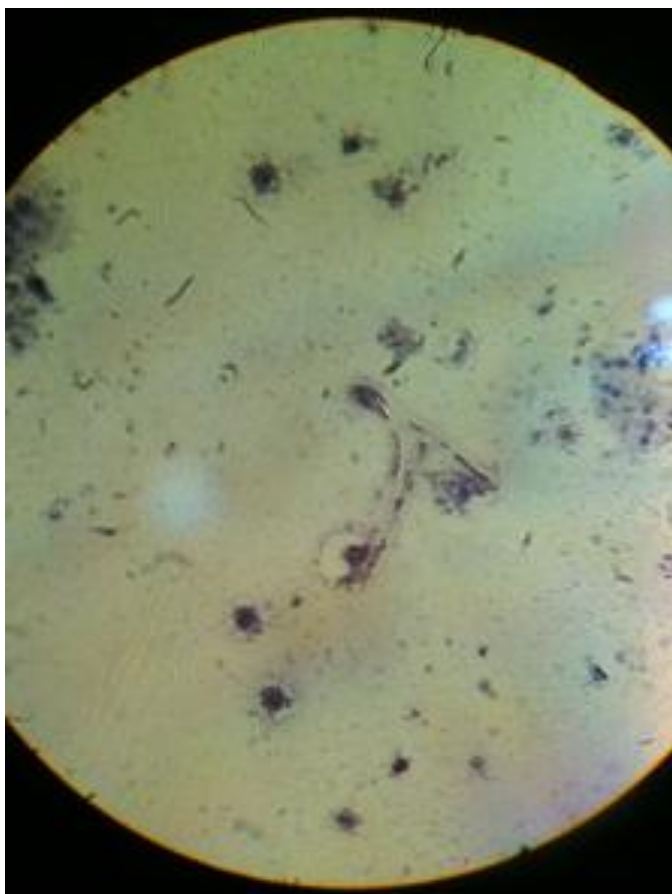
Često se može susresti anemija i smanjena količina elektrolita. Samo ponekad se pojavljuju heterofilija, leukocitoza ili limfomonocitoza, bazofilija i trombocitopenija.

Konačna se dijagnoza postavlja na osnovi razudbenog i patohistološkog nalaza. Uzročnik se uglavnom nakuplja između prijelaza žljezdanog u mišićni želudac i neobično je osjetljiv na niži pH želuca te izaziva ulceracije, hipersekreciju sluzi i krvarenje. Nekrotična žarišta sadržavaju veliki broj stanica *M. ornithogaster*, a najviše na prijelazu mišićnog u žljezdani dio želuca.

M. ornithogaster (Slika 1. i 2.) se može vidjeti u razmascima izmeta, strugotinama sluznice žljezdanog želuca ili citološkim uzorcima bojenima prema Gramu (HOPPES, 2012.).



Slika 1. Dokaz *M. ornithogaster* u otisku žljezdanog želuca obojenog po Gramu



Slika 2. Dokaz *M. ornithogaster* u razmasku izmeta obojenog po Gramu

2.8. Profilaksa i liječenje

Točan način prijenosa uzročnika nije poznat. Moguć je prijenos izmetom te hranjenjem mladunaca iz kljuna roditelja. Stoga je nužno temeljito mehaničko čišćenje kaveza, pojilica i hranilica (HOPPES, 2012.).

Pticama oboljelima od megabakterioze preporučuje se hrana bez dekstroze, fruktoze ili galaktoze.

Danas na tržištu postoji nekoliko lijekova s kojima se ova bolest može suzbijati.

Najbolji rezultati postižu se amfotericinom B, nistatinom, primjenom niskih doza antigljivičnih sredstava te natrijevim benzoatom (BRADLEY i sur., 2005.).

Ljekoviti pripravci se koriste najčešće putem vode za piće ili p.o.. Amfotericin B je čisti produkt te se od njega radi suspenzija (BRADLEY i sur., 2005.).

Nistatin daje dobre rezultate kad se primjenjuje u vodi za piće u dozi od 3,500,000 UI/l 2 dana te nakon toga 2,000,000 UI/l kroz 28 dana (KHEIRANDISH i sur., 2011.). Ova studija se provela u dobro kontroliranim uvjetima u kojima je, nakon tretiranja, skupina ptica bila žrtvovana i dokazano slobodna od infekcije.

Natrijev benzoat prevenira rast *M. ornithogaster in vitro*. Ipak, lijek se mora koristiti sa oprezom jer može uzrokovati trovanje (BRADLEY i sur., 2005.).

Budući da je lužnati mediji pogodan za razvoj *M. ornithogaster* poželjno je zakiseliti želudaci to jabučnim octom, običnim octom ili limunovim sokom i to prema posebnoj uputi veterinaru ili davati probiotike, kao što su *Lactobacillus spp.*

Važnu ulogu imaju i biosigurnosne mjere, naročito kontinuirana i temeljita dezinfekcija, kako bi se što više smanjio prijenos bolesti u uzgojima ali i sa kavezno držanih ptica na divlje ptice (MOORE i sur., 2001.).

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Uzorci fecesa i postupak izdvajanja DNA

Za izdvajanje DNA korišteni su uzorci fecesa ukrasnih ptica iz uzgoja i trgovina arhivirani na Zavodu za bolesti peradi s klinikom. Sukladno laboratorijskom postupku ukupna DNA je izdvojena primjenom kita GenElute™ Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma Aldrich, Njemačka) prema napatku proizvođača. Nakon izdvajanja ukupna DNA čuvala se na – 20 C do analize.

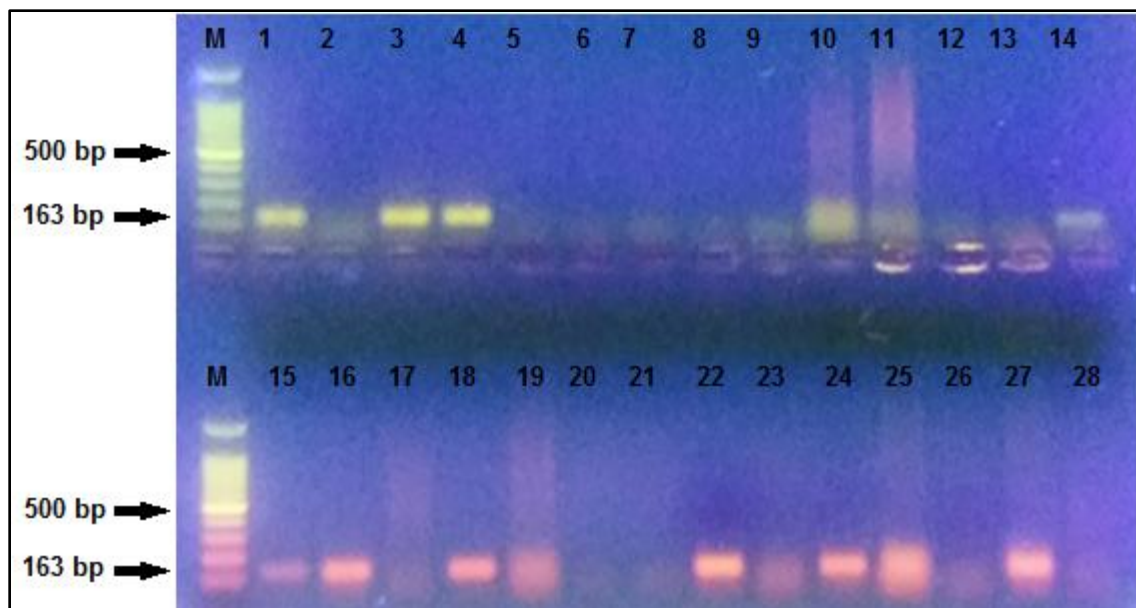
3.2. Korištene početnice i PCR reakcija

Za dokaz gljive *M. ornithogaster* korištene su opisane početnice (TOMASZEWSKI i sur., 2003.) koje umnažaju dio genoma 18S rDNA:

F: GGACTTATATTACTAGTCAGATGG

R: CAATACGCCTGCTTTGAACACTC

Primjenom kita GoTaq® G2 Hot Start Green Master Mix (Promega, Njemačka) i specifičnih početnica u PCR reakciji je umnožen produkt veličine 163 bp prema napatku proizvođača i autora (TOMASZEWSKI i sur., 2003.). Nakon PCR reakcije produkt je vizualiziran na 1,5% agaroznom gelu uz korištenje SYBR Safe DNA Gel Stain (Thermo Fisher Scientific, Njemačka) primjenom transiluminatora s UV svjetlom.



Slika 3. Vizualizacija PCR produkta veličine 163 bp na 1,5 % agaroznom gelu (M- marker; 1, 3, 4, 14, 15, 16, 18, 22, 24, 27 - pozitivni uzorci)

4. REZULTATI

Analizirano je ukupno 97 uzoraka, od čega je 50% bilo porijeklom iz uzgoja ptica, a ostatak iz trgovina za kućne ljubimce. Uzorci su skupljeni u periodu od 2010. do 2015. godine.

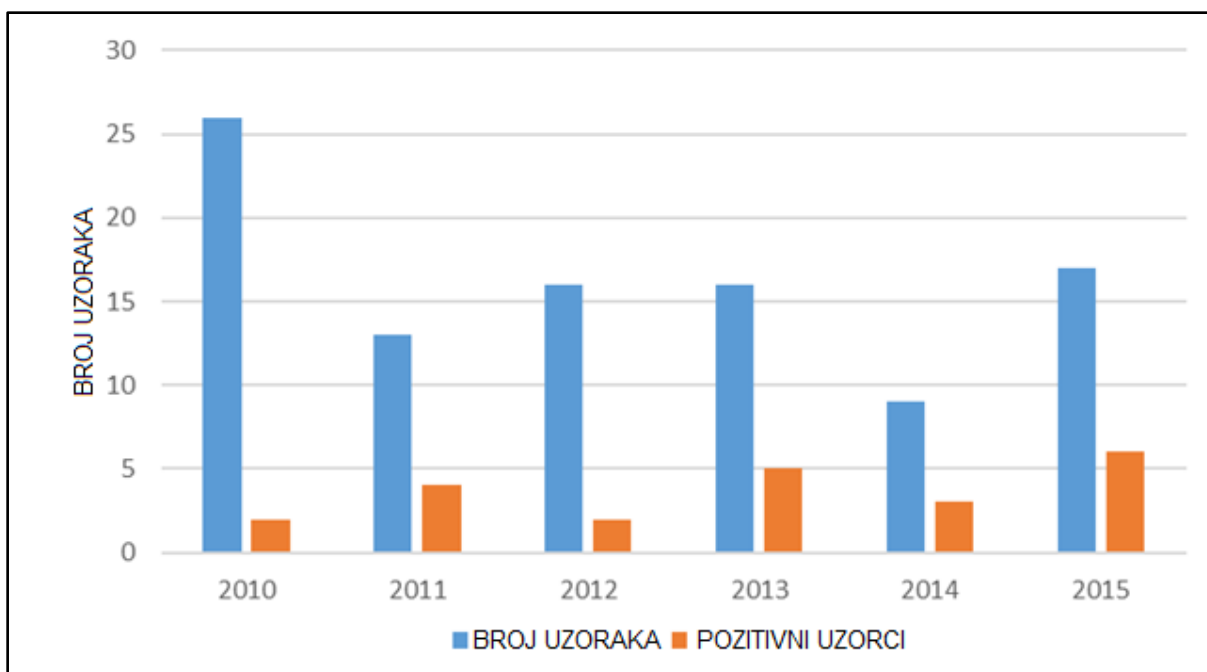
U 2010. godini bilo je 26 uzoraka uz 2 pozitivna uzorka na *M. ornithogaster* (Tablica 1).

Tijekom 2011.g. analizirano je 13 uzoraka od kojih su 4 pozitivna; 2012.g. 16 uz 2 pozitivna, 2013.g. 16 uz 5 pozitivnih, 2014.g. 9 uz 3 pozitivna te 2015.g. 17 uz 6 pozitivnih uzoraka (Slika 4).

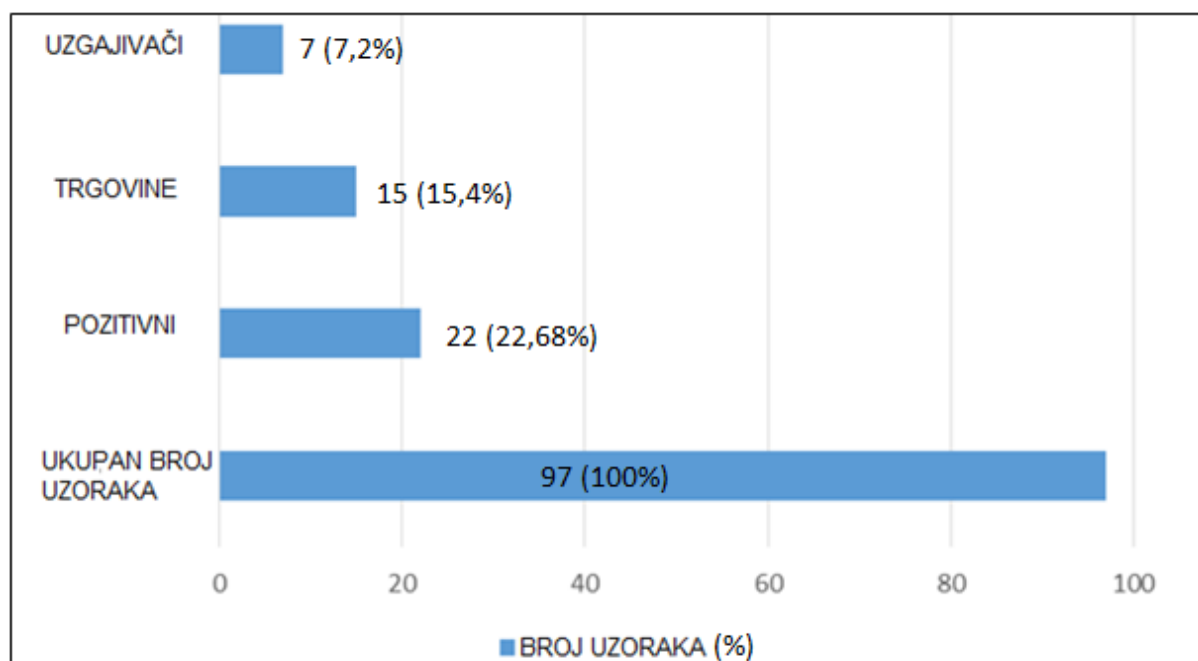
Rezultati tako pokazuju kako je sveukupno 22 (22,68%) uzorka bilo pozitivno na megabakterije, od čega je 15 (15,4%) bilo od uzoraka dostavljenih iz trgovina za kućne ljubimce te 7 (7,2%) od uzgajivača ptica (Slika 5).

Tablica 1. Broj pretraženih i pozitivnih uzoraka na *M. ornithogaster* po godinama.

GODINA	BROJ PRETRAŽENIH UZORAKA	BROJ POZITIVNIH UZORAKA
2010	26	2
2011	13	4
2012	16	2
2013	16	5
2014	9	3
2015	17	6



Slika 4. Broj pretraženih te pozitivnih uzoraka na *M. ornithogaster* po godinama od 2010. - 2015. god.



Slika 5. Broj (%) ukupno pretraženih i pozitivnih uzoraka te broj pozitivnih uzgoja i trgovina kućnih ljubimaca na *M. ornithogaster*.

5. RASPRAVA

Megabakterioza je akutna gljivična infekcija s *M. ornithogaster*, teško izlječiva te u poodmaklom stadiju često sa smrtnim ishodom.

Ranije se nije pridavalo previše važnosti ovoj bolesti. Danas se zna da je to bolest koja se pojavljuje u uzgojima ptica i trgovinama kućnim ljubimcima odnosno područjima sa velikim brojem skupno držanih ptica.

Najveći problem je što često inficirana ptica ne pokazuje simptome bolesti, a prenosi uzročnika. Bolest je često kroničnog tijeka pri čemu ptice postepeno mršave ali imaju izražen apetit.

Većina infekcija dolazi putem fekalno oralne kontaminacije od strane bolesnih ili subklinički zaraženih ptica.

Dosadašnja istraživanja pokazala su veliku učestalost *M. ornithogaster* u uzgojima tigrice (FILIPPICH i HERDRIKZ, 1998.) s ciljem eliminiranja uzročnika iz uzgoja. Pokazalo se da je jedini način uspostave uzgoja slobodnog od megabakterija korištenje ptica porijeklom od umjetno inkubiranih jaja i ručno hranjenih (HOPPES, 2018.).

S obzirom na visoku pojavnost megabakterioze u ptica kućnih ljubimaca pacijenata Ambulante, cilj našeg istraživanja bio je pokazati učestalost pojavljivanja u uzgojima i trgovinama, mjestima najčešćeg širenja među pticama, kao i važnost prevencije same bolesti. Primjena PCR metode pokazala se metodom izbora budući je u svrhu monitoringa moguće brzo i jednostavno pretražiti velik broj uzoraka, a osjetljivost metode je značajno veća u odnosu na dijagnostiku pretragom obojenih razmazaka izmeta. Naši rezultati samo su pokazatelj da ova bolest ima visoki stupanj rasprostranjenosti u uzgojima ptica i trgovinama za kućne ljubimce na cijelom području Republike Hrvatske, kao mjestima lakog i učestalog širenja. Upravo zbog tog visokog stupnja rasprostranjenosti potreban je stalan monitoring, bolja terapija, temeljito mehaničko čišćenje kaveza, pojilica i hranilica odnosno poboljšanje biosigurnosnih mjera u trgovinama kućnih ljubimaca, a naročito u uzgojima.

6. ZAKLJUČCI

1. PCR metoda pretragom DNA podrijetlom od uzoraka fecesa ptica omogućuje brz, jednostavan i učinkovit dokaz uzročnika *M. ornithogaster*
2. Rezultati pokazuju značajnu zaraženost uzgoja i trgovina pticama kućnim ljubimcima.
3. Potreban je konstantan monitoring ptica i poboljšanje biosigurnosnih mjera u uzgojima i trgovinama pticama kućnim ljubimcima te bolje mogućnosti terapije ptica.

7. LITERATURA

1. BAKER, J. R. (1985): Clinical and pathological aspects of 'going light' in exhibition budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). Vet. Rec. 116, 406-408.
2. BRADLEY, A, Y. HANAFUSA, D. N. PHALEN (2005): *Macrorhabdus ornithogaster*: inhibitory drugs, oxygen toxicity and culturing from feces. USDA sponsored summer research program. Athens, GA.
3. DONELEY, B. (2012): Weight loss syndrome in juvenile free-living galahs (*Eolopus roseicapillus*). Proceedings Annual Conference Australasian Association of Avian Veterinarians and Unusual and Exotic Pet Veterinarians, 9-11.
4. FILIPPICH, L. J i J. K. HERDRIKZ (1998): Prevalence of megabacteria in budgerigar colonies. Australian Vet. J. 76, 92-95.
5. FILIPPICH, L. J. I M. G. PARKER (1994): Megabacteria in wild birds in Australia. Australian Vet. Practitioner 24, 72-84.
6. HANNAFUSA, Y., A. BRADLEY, E. E. TOMASZEWSKI, M. C. LIBAL, D. N. PHALEN (2007): Growth and Methabolic Characterization of *Macrorhabdus Ornithogaster*. J Vet. Diagn. Invest. 19, 256-265.
7. HENDERSON, G. M., F. M. D. GULLAND, C. M. HAWKEY (1988): Haematological findings in budgerigars with megabacterium and trichomonas infections associated with 'going light'. Vet. Rec. 123, 492-494.
8. HOPPE, S. (2012): Treatment of *Macrorhabdus ornithogaster* with sodium benzoate in budgerigars (*Melopsittacus undulates*). U: Proceedings of the 23rd Annual Conference of the Association of Avian Veterinarians, Seattle, SAD, str. 67.

9. HOPPEs, S. (2018): Mycotic diseases of pet birds: *Macrorhabdus ornithogaster* infection. U: MSD Veterinary Manual – Internetsko izdanje.
10. KHEIRANDISH, R. i M. SALEHI (2011): Megabacteriosis in budgerigars: diagnosis and treatment. *Comp. Clin. Pathol.* 20, 501-505.
11. MARTINS, N. R. S., A. C. HORTA, A. M. SIQUEIRA, S. Q. LOPES, J. S. RESENDE, M. A. JORGE, R. A. ASSIS, N. E. MARTINS, A. A. FERNANDES, P. R. BARRIOS, T. J. R. COSTA, L. M. C. GUIMARÃES (2006): *Macrorhabdus ornithogaster* in ostrich, rhea, canary, zebra finch, free range chicken, turkey, guinea-fowl, columbina pigeon, toucan, chuckar partridge and experimental infection in chicken, Japanese quail and mice. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 58, 291–298.
12. MOORE, R. P., K. F. SNOWDEN, D. N. PHALEN (2001): A method of preventing transmission of so-called “megabacteria” in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *J. Avian. Med. Surg.* 15, 283–287.
13. MUTLU, O. F., S. SECKIN, K. RAVELHOFER, R. A. HILDEBRAND, F. GRIMM (1997): Proventriculitis in domestic fowl (*Gallus gallus* var. dom. L., 1758) caused by megabacteria. *Tierarztl. Prax.* 25, 460–462.
14. PHALEN, D. N. (2005): Diagnosis and management of *Macrorhabdus ornithogaster* (formerly megabacteria). *Vet. Clin. North. Am. Exot. Anim. Pract.* 8, 299–306.
15. PIASECKI, T., S. PROCHOWSKA, Z. CELMER, A. SOCHACKA, M. BEDNARSKI (2012): Occurrence of *Macrorhabdus ornithogaster* in exotic and wild birds in Poland. *Medycyna Weterynary JNA* 68, 245-249.
16. SCHMIDT, R., D. REAVILL, D. N. PHALEN (2003): *Pathology of Exotic Birds*. Iowa State University Press, Ames, SAD, 50-51.

17. SIMPSON, V. R.(1992) Megabacteriosis in exhibition budgerigars. *Vet. Rec.* 131, 203-204.
18. TOMASZEWSKI E. K., K. S. LOGAN, K. F. SNOWDEN, C. P KURTZMAN, D. N. PHALEN (2003): Phylogenetic analysis identifies the 'megabacterium' of birds as a novel anamorphic ascomycetous yeast, *Macrorhabdus ornithogaster* gen.nov.sp.nov. *Int. J. Syst. Vol. Microbiol.* 53, 1201-1205.
19. TSAI, S. S., J. H. PARK, K. HIRAI, C. ITAKURA (1992): Catarrhal proventriculitis associated with a filamentous organism in pet birds. *Japanese Journal of Veterinary Research* 40, 143-148.
20. VAN HERCK, H., T. DUIJSER, P. ZWART, G. M. DORRESTEIN, M. BUITELAAR, M. H. VAN DER HAGE (1984): A bacterial proventriculitis of canaries. *Avian Pathology* 13, 561-572.

8. SAŽETAK

Infekcija gljivom iz skupine askomiceta *Macrorhabdus ornithogaster*, često nazvana megabakterija, uzrokuje izrazito tešku bolest u različitim vrsta ptica kućnih ljubimaca. Glavni izvor bolesti su zaražene ptice. Mnoge ptice nikad ne pokazuju znakove bolesti, ali zato konstantno šire uzročnika. Klinički znakovi ove bolesti su nespecifični i upućuju na kroničnu bolest. Kronična infekcija i upala žljezdanog želuca uzrokuje krvarenje u probavnom traktu, bezvoljnost i smrt. Uzročnik se fecesom širi na druge ptice. Iako se može dijagnosticirati na vrijeme, korištenje antimikotika ili antiseptika terapijski može biti upitno. Učestalost pojavljivanja megabakterioze u ptica kućnih ljubimaca u Hrvatskoj je visoka.

Cilj ovog istraživanja je utvrditi učestalost ove gljivice u uzgajivača ptica i trgovinama za kućne ljubimce, odnosno na mjestima najveće stope prijenosa.

Koristili su se DNA uzorci podrijetlom iz fecesa ptica čuvani u arhivi Zavoda. Feces se skupljao od ptica u uzgojima te ptica u trgovinama za kućne ljubimce u periodu od 2010. do 2015. godine.

Rezultati su pokazali kako je sveukupno 22 (22,68%) uzorka bilo pozitivno na megabakteriju, od čega je 15 (15,4%) bilo od uzoraka dostavljenih iz trgovina za kućne ljubimce te 7 (7,2%) od uzgajivača ptica.

Ovi rezultati samo su pokazatelj da ova bolest ima visoki stupanj rasprostranjenosti kako u uzgojima ptica tako i u trgovinama za kućne ljubimce. Upravo zbog tog visokog stupnja rasprostranjenosti potreban je stalan monitoring, bolja terapija, no naglasak je na poboljšanju biosigurnosnih mjera u trgovinama kućnih ljubimaca a naročito u uzgojima.

Ključne riječi: *Macrorhabdus ornithogaster*, megabakterija, PCR, monitoring

9. SUMMARY

Isolation and molecular characterisation of fungus *Macrorhabdus ornithogaster* in pet bird breeding flocks in Republic of Croatia

Macrorhabdus ornithogaster, often referred to as megabacteria, is a fungal infection, causing extremely severe disease in various bird species. The main source of microorganism is infected bird. Many birds never show signs of disease but are constantly spreading agents. Clinical signs of this disease are nonspecific and point to chronic illness. Chronic infection and inflammation of the glandular stomach causes bleeding in the digestive tract, lethargy and death. The microorganism spreads via faeces to other birds. Although it can be diagnosed in time, the use of antimetabolic or antiseptic in therapy may be questionable. The frequency of occurrence of the megabacteria in pet birds in Croatia is high.

The aim of this study is to determine the frequency of this fungus in pet bird breeding flocks and pet shops, places of the highest transfer rates.

We used DNA samples isolated from the pet bird faeces stored at the archive of the Department. Faeces have been sampled from bird breeding flocks and pet stores in the period from 2010 to 2015.

The results showed that 22 (22.68%) of 97 samples were positive for the *Macrorhabdus ornithogaster*, out of which 15 (15.4%) were samples delivered from pet stores and 7 (7.2%) from bird breeding flocks. These results indicate that this disease has a high incidence and possibility of spread both in bird breeding flocks and in pet stores. Due to this high level of distribution, constant monitoring and better therapy are needed, but the emphasis have to be on improving biosecurity measures in pet shops, and particularly in breeding flocks.

Keywords: *Macrorhabdus ornithogaster*, megabacteria, PCR, monitoring

10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 7. listopada 1992.g. u Zadru. Pohađala sam Osnovnu školu Šime Budinića, a nakon toga Opću gimnaziju Jurja Barakovića u Zadru. Tokom svog osnovnoškolskog i srednjoškolskog obrazovanja uvijek sam se zanimala za prirodne predmete, a ljubav prema životinjama me usmjerila da 2011. upišem studij na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Zbog ugodne suradnje sa doc. dr. sc. Željkom Gottsteinom i doc. dr. sc. Danijelom Horvatek Tomić tokom obveznog predmeta Bolesti peradi, odabrala sam izraditi ovaj diplomski rad na Zavodu za bolesti peradi s klinikom pod njihovim mentorstvom.