Protokol manipulacije, kliničkog pregleda i humane eutanazije kornjača roda *Trachemys*

Manipulacija životinjama

Sama manipulacija je u većine srednje velikih vrsta kornjača jednostavna, ali je klinički pregled vrlo težak jer je obrambena reakcija kornjača uvlačenje glave i ekstremiteta pod oklop.

Manipulacija slatkovodnim kornjačama je relativno jednostavna, no životinje je potrebno čvrsto držati jer čak i manje kornjače mogu biti vrlo snažne. Kornjače roda *Trachemys* znaju biti i vrlo agresivne, te je prilikom manipulacije nužan oprez kako nebi došlo do ugriza ili ogreba.

Životinje se hvataju na način da se prime s obje ruke za sredinu oklopa, te drže vodoravno ili okomito (slike 1 i 2).

Slika 1. primanje kornjače u vodoravan položaj

Slika 2. Primanje kornjače u okomit položaj

Poželjno je izbjegavati okretanje jedinki na karapaks (gornji oklop), jer može doći do pritiska jetre na pluća i posljedičnih dišnih problema (gmazovi nemaju ošit). Slika 3.

Slika 3. Nepravilna manipulacija – okretanje na plastron

Prilikom manipulacije i pregleda uputno je nositi zaštitne rukavice zbog prevencije zaraze bakterijom salmonelom, te ostalim potencijalno zoonotskim mikroorganizmima kojih gmazovi mogu biti prenosioci, ili neposredno nakon zahvata dobro oprati i dezinficirati ruke.

Klinički pregled

Klinički pregled u svrhu utvrđivanja zdravstvenog stanja počinje pregledom životinja u mirovanju prije hvatanja u ruke. Zdrave životinje moraju imati normalne pokrete ekstremiteta, kornjače moraju biti u mogućnosti uvlačiti glavu i noge u oklop. Promatraju se bilo kakvi znakovi deformacija, slabost, grčevi, abnormalne kretnje, ozlijede i slično. Životinje je potrebno i izvagati, te odrediti njihovo gojno stanje. Predebele kornjače imaju nakupine masnog tikva vidljive oko prednjih i zadnjih nogu (slika 4), dok premršave i dehidrirane jedinke imaju usukano tkivo prefemoralnih fosa i atrofiju vratne muskulature (slike 5 i 6), te djeluju „prazno“.

Slika 4. Nakupine masti oko zadnje noge

Slika 5. Usukano tkivo prefemoralne fose

Slika 6. Atrofija vratne muskulature

Nakon hvatanja životinje u ruke, određujemo spol, ako je moguće, na temelju sekundarnih spolnih karakteristika. Mužjaci poluvodenih kornjača obično su znatno manji od ženki, imaju vrlo duge nokte na prednjim nogama, te dug rep, s otvorom kloake bliže vrhu repa. Odrasle ženke obično su znatno veće s kratkim noktima na prednjim nogama i kratkim repom čiji je otvor kloake bliže bazi repa (slike 7 i 8).

Slika 7. Razlike između mužjaka i ženke – prednje noge

Slika 8. Razlike između mužjaka i ženke – rep

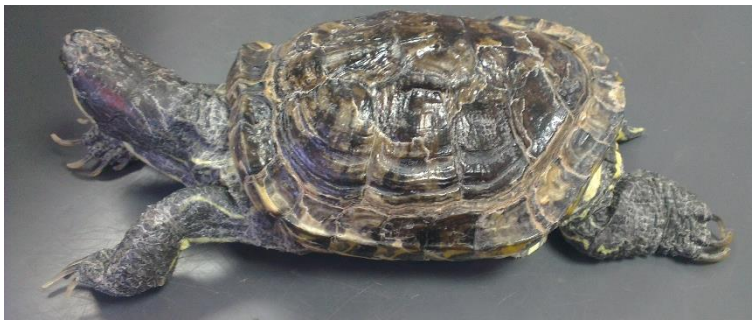
Klinički pregled počinje pregledom glave, očiju, nosnica i ušiju. Oni moraju biti bistri i suhi, bez upalnih promjena, sekreta i oteknuća (slike 9 i 10).

Slika 9. Glava klinički zdrave jedinke

Slika 10. Glava kornjače s upalom oka

Potrebno je pregledati i ekstremitete, te cijelu površinu kože na bilo kakva odstupanja od fizioloških osobitosti. Koža mora biti glatka i bez ozljeda. Također se pregledava i oklop na prisutnost bilo kakvih ozljeda, infekcija i deformacija (Slike 11 i 12)

Slika 11. Oklop zdrave kornjače

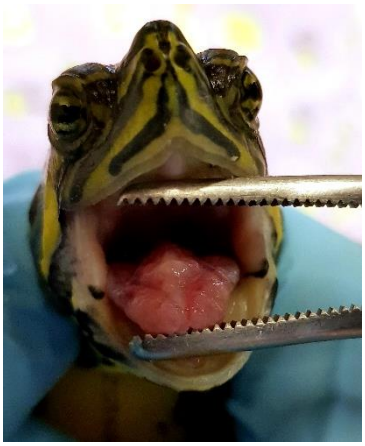


Slika 12. Kornjača s deformacijama oklopa

Pregledava se i okolina kloake kako bi se ustanovile eventualne ozlijede, prolaps organa, zaostalo jaje i sl. Palpacija kaudalnog dijela celoma moguća je preko kože prefemoralnih fosa (slika 13), te u većih jedinki perkloakalno.

Slika 13. Palpacija kaudalnog dijela celoma kroz prefemoralne fose

Usna šupljina otvara se čvrstim, tankim, tupim predmetom, te se potom pregledava sluznica usne šupljine, jezik i glotis. Jezik slatkovodnih kornjača je debeo i mesnat, svjetlo ružićaste boje, a glotis se nalazi nisko na bazi jezika (Slika 14).



Slika 14. Otvaranje usta i pregled jezika i glotisa

Od dodatnih dijagnostičkih pretraga najčešće se koristi rendgenološko snimanje (stanje unutarnjih organa, stanje koštanog sustava, strana tijela u probavnom sustavu, distocija…), kompletna krvna slika i mikrobiološka testiranja u svrhu utvrđivanja mikro i makroorganizama.

Aplikacija lijekova i anestetika

Obzirom da su gmazovi ektotermni organizmi, te im je kompletan rad svih organa ovisan o vanjskoj temperaturi, prije bilo kakvog davanja lijekova ili anestetika životinju je potrebno zagrijati na optimalnu temperaturu, koja se razlikuje ovisno o vrsti gmaza. Kornjače roda *Trachemys* potrebno je zagrijati na 25 – 28°C. Pri tome imajući na umu da tjelesnu temperaturu gmazovima ne možemo mjeriti standardnim termometrima, već minimalnim/maksimalnim termometrima za vanjski prostor (jedini pokazuju dovoljno niske temperature, slika 15).

Slika 15. Minimalni – maksimalni termometar

Kornjače se mogu zagrijati u za to predviđenim inkubatorima s termostatom (slika 17), pomoću grijačih ploča (slika 18) ili grijače lampe (slika 16), pri čemu je potreban oprez da životinja ne dobije opekotine i da ne dođe do površinske hiperemije prekomjernim zagrijavanjem grijaćom lampom ili pločom.

Slike 16 – 18. Različiti načini zagrijavanje kornjača – grijača lampa, inkubator, grijača ploča

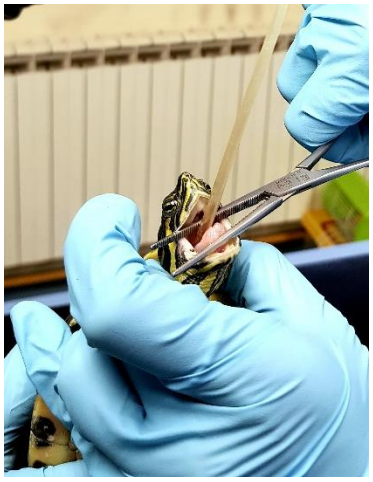
Nakon zagrijavanja na optimalnu temperaturu, poželjno je gmazove rehidrirati toplim infuzijskim tekućinama kako bi se pospješio metabolizam apliciranih lijekova.

Gmazovi imaju nižu osmolalnost krvi od sisavaca, te se za rehidraciju preporuča koristiti Ringerov laktat ili kombinaciju fiziološke otopine i 5% glukoze u omjeru 1:1. Dnevni unos bi trebao iznositi 2% tjelesne težine, a obzirom na stupanj dehidracije, tekućine se mogu nadoknaditi peroralno, subkutano, intracelomno ili intravenozno. Tekućine uvijek moraju biti zagrijane kako ne bismo dodatno uzrokovali hipotermiju

Načini aplikacije lijekova

Peroralna aplikacija

Peroralna aplikacija preporučljiva je jedino u životinja koje jedu, jer u suprotnome ne dolazi do resorpcije lijekova iz probavnog sustava u opću cirkulaciju. Lijekovi se apliciraju tupom sondom duboko u jednjak ili direktno u želudac (slika 19). Za razliku od sisavaca, u gmazova postoji vrlo mala šansa da se sonda aplicira u dušnik. Umjesto specijalne tupe metalne sonde u većih jedinki se može koristiti i dio cijevi infuzijskog sistema, ili humane pedijatarske sonde raznih dimenzija. Pri dugotrajnijim terapijama poželjno je postavljanje permanentnog ezofagostomalnog tubusa kako bi se smanjio stres od svakodnevne aplikacije sonde u probavni sustav.

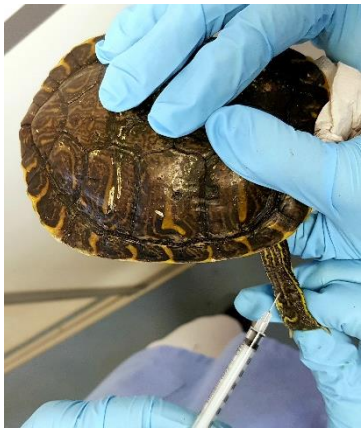


Slika 19. Peroralna aplikacija lijeka u želudac pedijatarskom gumenom sondom

Intramuskularna aplikacija

Obzirom na mogućnost postojanja renalno – portalnog krvotoka u gmazova, smatra se da svaki lijek koji se aplicira u prednji dio tijela prvo odlazi u opću cirkulaciju i djeluje na određen, željeni način, a nakon toga se metabolizira u bubrezima, dok se lijek dan u zadnji dio tijela prvotno metabolizira u bubrezima, te nakon toga odlazi u opću cirkulaciju. Iz tog se razloga smatra da se lijekovima apliciranima u kaudalni dio tijela može usmrtiti životinja (ako je riječ o nefrotoksičnom lijeku) ili pak lijek koji smo dali a prethodno je metaboliziran u bubrezima, ne daje željeni učinak u općoj cirkulaciji.

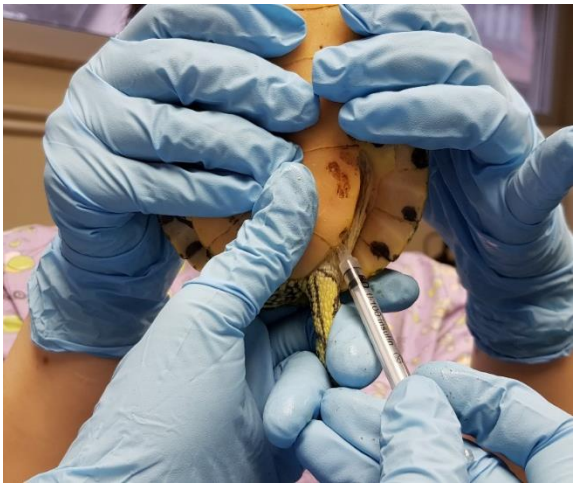
Mjesta intramuskularne aplikacije su: *Triceps brachii*, *Quadriceps femoris* ili bilo koji mišić koji možemo palpirati ako kornjača uvuče glavu i noge u oklop (slike 20, 21 i 22).



Slike 20 – 22. Intramuskularna aplikacija u *Quadriceps femoris*, *Triceps brachii* i glutealnu muskulaturu

Subkutana aplikacija

Mjesta aplikacije su potkožje prednjih nogu: cerviko – brahijalno (između prednjih nogu i vrata) ili aksilarno (između prednje noge i oklopa) i potkožje zadnjih nogu (prefemoralno). Slike 23, 24 i 25.



Slike 23 – 25. Subkutana aplikacija cerviko – brahijalno, aksilarno i prefemoralno

Intracelomna aplikacija

Mjesto intracelomne aplikacije lijekova je prefemoralna fosa, no životinja se postavlja na lijevi ili desni bok, kako prilikom aplikacije nebi došlo do ozlijede unutarnjih organa (slika 26).

Slika 26. Intracelomna aplikacija u prefemoralnu fosu

Intravenozna aplikacija

Bitno je naglasiti da krvne žile u većine gmazova nisu vidljive zbog debele kože, već je potrebno znati s kojih mjesta i na koji način je moguće izvaditi krv ili aplicirati lijek.

Mjesta intravenozne aplikacije u kornjača:

- **Dorzalna repna vena:** Za aplikaciju lijeka s tog mjesta potrebne su dvije osobe. Jedna oklopa fiksira životinju, a druga vadi krv. Potrebno je istegnuti rep prema dolje i čvrsto ga primiti (najbolje papirom). Iglom se ulazi po sredini repa pod kutem od 45^{o} dok se ne osjeti kost (krvna i limfna žila se nalaze iznad same kralješnice). Nakon toga potrebno je iglu lagano izvlačiti i aspirirati dok u konusu ne vidimo krv. Osoba koja drži kornjaču prima je za sredinu tijela i prstima fiksira zadnje noge u oklop (slika 27).

Slika 27. Fiksacija kornjače i vađenje krvi iz dozalne repne vene

- **Jugularna vena:** Jugularne vene se nalaze dosta površinski i lateralno na vratu, no često su teško vidljive radi debele kože iili nabora kože kornjača. One se nalaze paralelno s uhom. Prilikom vađenja potrebno je lagano istegnuti vrat, kako bi se igla mogla usmjeriti paralelno s uhom od glave prema vratu. (slika 28).

Slika 28. Vađenje krvi iz jugularne vene – smjer igle je paralelan s uhom

- **<u>Okcipitalni sinus:</u>** Okcipitalni sinus smješten je neposredno iza lubanje. Prilikom aplikacije, vrat je potrebno lagano istegnuti a glavu saviti prema dolje. Iglom se ulazi pod kutom od 90^{o} neposredno iza lubanje i lagano se aspirira. Potreban je oprez da se iglom ne uđe preduboko kako nebi ušli u kralješnički kanal. Potrebno je napomenuti da kornjače roda *Trachemys* imaju vrlo dug okipitalni izdanak te je potrebno glavu što više izvući iz oklopa i saviti prema dolje (slika 29).

Slika 29. Položaj vrata i vađenje krvi iz okcipitalnog sinusa

- **<u>Supravertebralna vena/sinus:</u>** Obično je dovoljna jedna osoba koja jednom rukom drži kornjaču a drugom vadi krv, no u agresivnijih kornjača je uputno da druga osoba pridržava glavu. Metodu je moguće izvesti i kada kornjača uvuče glavu u oklop. Iglom se ulazi po sredini karapaksa dorzalno od vrata, na spoju kože s karapaksom. Igla se usmjerava dorzalno do same vratne kralješnice i pri tome se lagano aspirira. Prije aplikacije uputno je iglu lagano savinuti. Metoda je pogodna jedino za aplikaciju sredstava za eutanaziju jer su moguće ozlijede vratne kralješnice iglom i posljedična paraliza ili uginuće životinje (slika 30).

Slika 30. Držanje kornjače jednom rukom, dok se drugom rukom vadi krv iz supravertebralnog sinusa

- **Srce:** Metoda je pogodna jedino u juvenilnih životinja čiji je plastron još uvijek mekan, te za vađenje manje količine krvi. Metoda nije uputna za aplikaciju lijekova. U većih životinja vrlo je teško probiti iglom spoj pločica plastrona. Pri samom postupku iglom se ulazi po sredini plastrona na spoju humeralne i pektoralne pločice plastrona (Slika 31).

Slika 31. Mjesto ulaska iglom kroz plastron u svrhu vađenja krvi iz srca. Napomena – slika pokazuje samo mjesto, kornjači ove veličine nije moguće izvaditi krv na taj način

Eutanazija

Kada kliničar donese odluku o eutanaziji životinje, njegova je odgovornost da postupak provede s maksimalnom dozom poštovanja prema životinji i uz minimalnu bol i minimalan stres životinje.

Mnogi protokoli eutanazije osiguravaju gubitak svijesti, no ne nužno i smrt životinje.

Postupak eutanazije trebao bi rezultirati brzim gubitkom svijesti, nakon čega slijedi srčani ili respiratorni arest i ono najbitnije - gubitak funkcije mozga.

Obzirom na značajne razlike u fiziologiji gmazova i sisavaca, sam postupak eutanazije je nešto kompliciraniji.

Obzirom da metabolizam lijekova u gmazova ovisi o vanjskoj temperaturi, životinje je potrebno dobro zagrijati kako bi premedikacija koja osigurava gubitak svijesti i bola bila što brža i efikasnija.

U tu svrhu preporuča se i rehidracija životinje (toplim infuzijskim otopinama) kako bi se ubrzao rad organa potrebnih za metabolizam lijekova.

Iako to ne pokazuju na jednak način, gmazovi osjećaju bol na jednak način kao i sisavci i iz tog im je razloga potrebno osigurati adekvatnu analgeziju. Činjenica da su gmazovi generalno mirniji i ne mogu se glasati ne znači da ne osjećaju bol. Generalno gledajući gmazovima je potrebno osigurati analgeziju za sve postupke za koje znamo da su bolni sisavcima.

Osim sporog metabolizma gmazovi imaju i visoku toleranciju prema hipoksiji, što je osobito izraženo u sjevernih vrsta (poput kornjača roda *Trachemys*) koje u prirodi hiberniraju tijekom zimskih mjeseci.

Za razliku od sisavaca, zaustavljanje protoka krvi u organizmu (zastoj rada srca) ne uzrokuje hipoksiju mozga, jer mozak gmazova tolerira ekstremno niske razine kisika čak i nakon dekapitacije. Drugim riječima gmazovi još satima/tjednima mogu osjećati bol čak i nakon zastoja rada srca.

Iz tog se razloga preporuča eutanazija u tri faze. Prva faza podrazumijeva aplikaciju anestetika i analgetika (intramuskularno ili intravenozno, ovisno o lijekovima koji se koriste), druga faza podrazumijeva intravenoznu aplikaciju sredstva za eutanaziju, a treća faza, nakon prestanka vidljivih znakova života podrazumijeva uništavanje mozga oštrim predmetom.

1. faza: intramuskularna/intravenozna aplikacija analgetika/sedativa

U tablici su navedeni prijedlozi kombinacija sredstava i doza, no kliničar može koristiti bilo koju kombinaciju s kojom je familijaran ili mu je dostupna, a osigurava gubitak svijesti i analgeziju. Bitno je da se kombinacije anestetika koriste u duploj dozi od preporučene.

Neke od preporučenih kombinacija

Lijek/kombinacija lijekova	Doza	Mjesto aplikacije
Ketamin + Medetomidin	10-20 mg/kg (K) + 0.15 – 0.3 mg/kg (M)	IM
Ketamin + Midazolam	60 mg/kg (K) + 2 mg/kg (Mi)	IM
Ketamin + Ksilazin	30 mg/kg (K) + 1 mg/kg (X)	IM
Propofol	5-10 mg/kg	IV

Doze navedene u tablici se u svrhu anestezije za eutanaziju daju u duploj dozi od navedene u tablici, te je uputno dati i dodatnu analgeziju

Preporučeni analgetici

Lijek	Doza	Mjesto aplikacije
Butorphanol	0.4 – 1 mg/kg	SC, IM
Meloxicam	0.5 mg/kg	IM
Tramadol	5 – 10 mg/kg	IM

Napomena:
Inhalacijska anestezija – obzirom da poluvodene kornjače mogu držati dah satima, nije ih moguće uspavati na masku, već ih je potrebno intubirati uz prethodnu premedikaciju, te se taj način sedacije u njih ne smatra praktičnim.

2. faza: intravenozna aplikacija sredstva za eutanaziju (T61)

Sredstvo za eutanaziju se aplicira u dozi 1-2 ml intravenozno na jedno od gore navedenih mjesta za intravenoznu aplikaciju/vađenje krvi.

3. faza: uništavanje mozga oštrim predmetom u svrhu konačnog uginuća životinje

Nakon prestanka svih vidljivih znakova života debljom iglom se ulazi iza okcipitalnog izdanka kao što je objašnjeno pri vađenju krvi, ali se igla uvodi vodoravno (vrat je savinut prema dolje) prema prednjem dijelu glave, te se igla pomiče lijevo – desno. Mozak se nalazi otprilike u ravnini s uhom (slika 32).

Slika 32. Smjer igle u svrhu uništavanja mozga i okončavanja života jedinke

Neprihvatljive metode

Zbog osobitosti fiziologije gmazova, neke se metode ne smatraju prihvatljivima, ili barem ne kao samostalni postupci.

Neprihvatljivim metodama se smatra:

Smrzavanje – smatra se neprihvatljivom metodom jer prilikom smrzavanja dolazi do stvaranja kristalića leda u organima što je izrazito bolno.

Smatra se prihvatljivom metodom jedino u slučaju eutanazije gmazova lakših od 4 grama, i to brzim uranjanjem u tekući dušik.

Dekapitacija – radi tolerancije gmazova na hipoksiju ova metoda nije prihvatljiva kao jedina metoda eutanazije jer nakon dekapitacije, a ovisno o vrsti, gmazovi mogu još danima, tjednima ili mjesecima osjećati bol. Dekapitacija je dopustiva metoda ako se izvodi nakon sedacije/anestezije i ako se nakon dekapitacije mozak uništi oštrim predmetom, kako bi se okončao život životinji.

Uništavanje mozga oštrim predmetom bez prethodne analgezije i sedacije – obzirom da sam postupak prije nego se zgotovi može biti jako bolan, ne preporuča se izvoditi ovu metodu bez prethodne analgezije i sedacije osobito ako sam kliničar nema mnogo iskustva sa samim postupkom.

Aplikacija sredstva za eutanaziju intramuskularno – sredstvo za eutanaziju aplicirano intramuskularno izaziva nekroze i izrazito je bolno.

Autor protokola: Doc. dr. sc. Maja Lukač, Dip ECZM (Wildlife Population Health), Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska

Autori fotografija: Aleksandar Gavrilović, Maja Lukač

Korištena literatura:

1. Rafetry A. (2004): Clinical examination. In: BSAVA Manual of Reptiles, 2nd Edition (Girling S. J., P. Raiti, eds). British Small Animal Veterinary Association, Gloucester, UK. Pp. 51 – 63.
2. Heard D., K. Harr, J. Wellehan (2004): Diagnostic sampling and laboratory tests. In: BSAVA Manual of Reptiles, 2nd Edition (Girling S. J., P. Raiti, eds). British Small Animal Veterinary Association, Gloucester, UK. Pp. 71 – 87.
3. Simpson S. Ending it all: Euthanasia of Reptiles. https://www.awrc.org.au/uploads/5/8/6/6/5866843/simpson2.pdf
4. Woodbury M. (2014): Euthanasia. In: Zoo Animal and Wildlife Immobilization and Anesthesia, 2nd Edition (West G., D Heard, N. Caulket., eds). Wiley Blackwell, Iowa, USA. Pp. 149 – 153.
5. Olsson A., M. Simpson (2018): Analgesia and Anesthesia. In: Reptile Medicine and Surgery in Clinical Practice (Doneley B., D. Monks, R. Johnson, B. Carmel, eds.). Wiley Blackwell, Hoboken, USA. Pp. 369 – 381.
6. Hyndman T. (2018): Euthanasia. . In: Reptile Medicine and Surgery in Clinical Practice (Doneley B., D. Monks, R. Johnson, B. Carmel, eds.). Wiley Blackwell, Hoboken, USA. Pp. 449 – 451.
7. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. American Veterinary Medical Association, Schamburg, USA.