

STUDII DE ETIOLOGIE ȘI EPIDEMIOLOGIE MOLECULARĂ ÎN ECHINOCOZOZA/ HIDATIDOZA LA ANIMALE ÎN SUDUL ROMÂNIEI; PROGRAM DE CONTROL PARAZITOLOGIC

REZUMAT

Cuvinte cheie: *Echinococcus granulosus*; echinococoză/hidatidoză; etiologie; epidemiologie moleculară (PCR); bovine; ovine; examinare coproparazitologică, coproELISA, control parazitologic.

Echinococoza este o problemă majoră a sănătății publice, în special în regiunile cu resurse economice limitate (Otero - Abad și Torgerson, 2013). În aceste zone există indicii ale unei creșteri a numărului de cazuri de echinococoză/hidatidoză (E/H), astfel că această parazitoză este considerată ca fiind în curs de expansiune (Grosso și col., 2012; Schweiger și col., 2007; Torgerson și col., 2006). E/H este, de obicei menținută prin ciclul biologic domestic (câine/ungulate domestice) și reprezintă o zoonoză persistentă în special în zonele rurale de creștere a animalelor, unde oamenii conviețuiesc cu câinii pe care îi hrănesc cu viscerele animalelor parazitare (Torgerson și Budke, 2003).

Povara economică a E/H rezultată din afectarea industriei animaliere, la nivel global, a fost estimată la peste 2 miliarde dolari pe an (Budke și col., 2006). Valoare apropiată se înregistrează și consecutiv evoluției echinococozei chistice (CE) la om (spitalizare, repaus medical, tratamente efectuate etc.). Atkinson și col. (2013) afirmă faptul că la nivel mondial, 2 – 3 milioane de persoane sunt afectate de această zoonoză și aproximativ 200.000 de cazuri noi de E/H sunt diagnosticate anual. În ciuda substanțialului impact socio-economic, CE este în continuare prezentă în unele zone cu incidență crescută (Craig și col., 2007). Recent, Organizația Mondială a Sănătății a inclus echinococoza umană în cadrul grupului zoonozelor neglijate (OMS, 2010).

Studiile cuprinse în această teză au fost realizate în perioada 2009 - 2015 și au avut drept obiective studierea etiologiei și epidemiologiei moleculare în echinococoza/ hidatidoza la

TEZĂ DE DOCTORAT

animale în sudul României și integrarea rezultatelor obținute în cadrul unui program de control parazitologic al acestei importante zoonoze.

Teza de doctorat este structurată în două părți. Prima parte este intitulată „Studiu bibliografic” și cuprinde șase capitole, iar cea de-a doua parte de „Cercetări proprii” este alcătuită din cinci capitole. Pe parcursul tezei se regăsesc 50 figuri (imagini foto, reprezentări schematice și grafice) și 16 tabele (Anexa I). Lista bibliografică ce stă la baza acestei teze cuprinde un număr de 314 titluri.

Prima parte a tezei este o sinteză a literaturii de specialitate consultate în vederea aprofundării cunoștințelor despre echinococoză/hidatidoză.

Capitolul 1 prezintă date generale ale E/H, incluzând istoricul, taxonomia, încadrarea sistematică și ciclul biologic cu descrierea cestodului adult, dar și a stadiului larvar al parazitului *Echinococcus granulosus*.

Capitolul 2 ilustrează răspândirea echinococozei/hidatidozei și implicit a genotipurilor lui *Echinococcus granulosus* la nivel global și în țara noastră.

Capitolul 3 tratează aspectele patogenetice, modificările anatomopatologice și manifestările clinice întâlnite la animale (GI și GD) cu echinococoză/hidatidoză.

Capitolul 4 este o trecere în revistă a diferitelor metode de diagnostic a echinococozei/hidatidozei la animalele în viață și post-mortem, inclusiv diagnosticul diferențial al E/H.

Capitolul 5 prezintă date despre impactul economic și social al acestei grave parazitoze. Sunt redate câteva date despre costurile rezultate în urma pierderilor determinate de E/H la animale din diferite țări.

Al șaselea capitol constă în descrierea unor aspecte legate de combaterea E/H, fiind prezentate în cele două subcapitole tratamentul și profilaxia acestei parazitoze.

TEZĂ DE DOCTORAT

Partea a doua a tezei este menită să redea rezultatele obținute în urma efectuării cercetărilor proprii, urmate de concluziile generale și partea bibliografică.

Capitolul al 7-lea din teză prezintă epidemiologia hidatidozei la animale de rentă din zona de sud a României .

În subcapitolul 7.1. este prezentată evaluarea incidenței hidatidozei prin examen necropsic și parazitologic la animale de rentă din zona de Sud a României și înregistrarea localizării chiștilor hidatice. Cele patru specii de animale de rentă examinate după sacrificare au fost: porcine (n=3780), bovine (n=1878), ovine adulte (n=642) și miei (n= 589), dar și ecvine (n=24). Ele au avut ca proveniență zece de județe din România și au fost sacrificate în patru abatoare oficiale (Buzău, Dâmbovița, Teleorman și Vâlcea).

Prevalența hidatidozei la animalele luate în studiu a variat în funcție de specie, fiind 65.6% la ovinele adulte, 40.1% la bovine, 25% la cabaline, iar la suine și miei 0%. La rumegătoare, localizările predominante ale chiștilor hidatice au fost pulmonare (65.1% la bovine, respectiv 63.8% la ovine) urmate de cele hepatice (31.2% la bovine și 36% la ovine), pe când la cabaline au predominat chisturile la nivel hepatic (58.3%).

În subcapitolul 7.2. sunt cuprinse rezultatele caracterizării morfologice a 2869 de chisturi hidatice recoltate și analizate în laborator, în ceea ce privește morfometria și determinarea viabilității acestora.

Cei mai mulți chiști hidatice analizați au avut dimensiuni medii cuprinse între 2 și 5 cm (966/1716 - 56.3% la bovine, 794/1141 - 69.6% la ovine și 9/12 - 75% la ecvine). Chiștii recoltați au fost clasificați în funcție de aspectul lor în: normali (fertili sau sterili), cazeificați sau calcificați.

Viabilitatea chisturilor hidatice a fost pusă în evidență prin examinarea microscopică a diferitelor componente ale acestora și observarea protoscolecșilor. Proporția chiștilor viabili la ovine a fost foarte crescută (73%), în timp ce la bovine a fost foarte scăzută (0.17%); la cabaline nu au fost înregistrați chiști hidatice viabili. Se poate concluziona faptul că ovinele sunt specia la care fertilitatea chisturilor este cea mai mare și astfel confirmă rolul esențial al acestei gazde în transmiterea echinococozei.

Obiectivul studiului descris în **capitolului al 8-lea** a fost cel de a caracteriza și identifica prin metode de biologie moleculară (PCR) speciile/sușele de *Echinococcus*, utilizând material

TEZĂ DE DOCTORAT

genetic obținut din chisturi hidatice de la rumegătoare sacrificate în abatoare. Aceste rumegătoare au provenit din gospodăriile populației și ferme specializate localizate în șapte județe diferite ale României. Cercetările pentru identificarea sușelor de *Echinococcus* au fost realizate pe parcursul a două stagii efectuate în laboratorul de Biologie Moleculară din cadrul Facultății de Medicină Veterinară din Napoli, Italia.

Un număr de 128 chiști hidatici (39 de la ovine și 89 de la bovine) au fost recoltați în vederea analizării lor. În urma efectuării Reacției de Polimerizare în lanț (PCR), perechea de primeri utilizată (JB3 și JB 4.5) a amplificat o regiune de aproximativ 450 bp a genei mitochondriale subunitatea 1 (CO1) pentru 114 din probele analizate.

Din cele 67 de probe de la bovine, 53 (79.1%) au fost identice 100% cu genotipuri ale complexului *E. granulosus* s.s. și anume: G1 (n= 29), G2 (n= 12) și G3 (n= 12) (GenBank: U50464, AY462129, M84662, M84663). Au fost detectate și variante diferite: trei probe (4.5%) au fost identice cu varianta G1c (GenBank CO1: AY686565.1), una (1.5%) cu varianta G2b (GenBank CO1: AY686560 0.1) și două (3%) cu varianta G2c (GenBank CO1: AY686563.1). Opt (11.9%) dintre probele de la bovine au fost identice cu o varianta G2 care avea o mutație de tranziție a unei citozine (C) la timină (T) în poziția 257 (varianta G2 T257C).

Din cele 31 de probe de la ovine, 23 (74.2%) au prezentat identitate de 100% cu genotipuri ale complexului *E. granulosus* s.s. : G1 (n= 16) și G3 (n= 7) (GenBank: U50464, AY462129, AY686559, M84663). Au fost identificate și variante ale lui G1: o probă (3.2%) a fost identică cu varianta G1a (GenBank: AY686564.1) și șase probe cu varianta G1c (GenBank: AY686565.1). O probă (3.2%) a fost identică cu varianta G2a (GenBank: AY686561.1).

Capitolul 9 cuprinde cercetări efectuate în vederea evaluării prevalenței infecțiilor parazitare intestinale la caini din sudul României, cu accent pe *Taenia* spp. / *Echinococcus* spp.. Metodele utilizate pentru obținerea rezultatelor au constat în examen coproparazitologic și tehnica imunologică ELISA.

Pentru examinarea coproparazitologică au fost recoltate 787 de probe de fecale de la câini din mediul urban (n=544) și rural (n=109), dar și de la câini de pază la rumegătoare (n=134). Prevalența totală a infestațiilor endoparazitare la câini a fost de 71.5%. Oncosfere de *Taenia* spp. au fost identificate în proporție de 1.1% (9/787) în probele de fecale analizate. Au existat diferențe semnificative ($P = 0.005$) din punct de vedere statistic între cele trei categorii de câini

TEZĂ DE DOCTORAT

analizate la care au fost găsite ouă de *Taenia* spp. (câinii din mediul rural 3.7%; din mediul urban 0.4% și cei de pază la rumegătoare 2.2%).

Un număr de 132 probe de fecale au fost prelucrate și examinate printr-un test imunoenzimatic pentru detectarea coproantigenelor de *E. granulosus*. CoproAg ELISA CHEKIT - Echinotest a fost pozitiv în cazul a unsprezece probe de fecale din totalul celor analizate, care arată o prevalență totală de 8.33%.

Capitolul 10, face referire la elaborarea unui program de control parazitologic al E/H la animale din România, corelat cu epidemiologia și patogenia genotipurilor identificate.

Ultimul capitol al tezei, **Capitolul 11** sumarizează concluziile generale desprinse din partea de cercetări personale.