

Teză de doctorat

Ecologia și epidemiologia ectoparaziților specifici liliecilor din Europa de Sud-Est

Doctorand: **Péter Áron**

Conducător de doctorat: **Prof. dr. Andrei Daniel Mihalca, Dipl ECZM**



Rezumat

În ultimii ani, există o creștere în atenția științifică față de rolul liliiecilor în transmiterea agenților patogeni. Din ce în ce mai multe studii analizează modul în care liliicii contribuie la distribuția și evoluția diferitelor grupuri de agenți patogeni (WIBBELT ET AL., 2010). În prezent datorită globalizării intense crește posibilitatea contactului dintre oameni cu animale sălbatice, inclusiv cu liliicii. Globalizarea perturbă, de asemenea, echilibrul natural al populațiilor de lilieci și al agenților patogeni asociați, provocând ‚spill-over-uri’ mai frecvent. Aceste evenimente pot reprezenta o amenințare reală pentru sănătatea umană (așa cum am experimentat cu epidemia COVID-19), dar și pentru animalele domestice sau sălbatice (MORATELLI ȘI CALISHER, 2015). În răspândirea acestor agenți patogeni, ectoparaziții au un rol major ca rezervoari sau vectori (MCCOY ET AL., 2013). În afară de acarieni, purici sau cimicide, considerăm căpușele și muștele specifice liliecilor cele mai importante grupe epidemiologice de ectoparaziți ale acestor animale. În cazul diferiților patogeni (*Bartonella* spp., *Borrelia* spp., *Babesia* spp., *Rickettsia* spp. sau *Polychromophilus* spp.) s-a demonstrat faptul că ectoparaziții liliecilor acționează ca și vectori (LVOV ET AL., 1973; HOOGSTRAAL, 1985; HUBBARD ET AL., 1998; EVANS ET AL., 2009; SOCOLOVSKI ET AL., 2012; HORNOK ET AL., 2017).

Ectoparaziții liliecilor sunt de obicei foarte specifici pentru gazdele lor (paraziți mono- sau oligoxeni), având ca și gazdă una sau doar câteva specii de lilieci. Cu toate acestea, există unele specii de ectoparaziți (de exemplu căpușa *Argas vespertilionis*) care sunt mai generalști și uneori infectează și alte mamifere (ROMN ET AL., 2012). Alte specii de căpușe specifice liliecilor din Europa sunt: din familia Ixodidae: *Ixodes vespertilionis*, *I. simplex*, *I. aradnae* și din familia Argasidae: *A. transgaripeinus* (este mai puțin frecventă).

Pe de altă parte, toate speciile de muște de lilieci sunt paraziți exclusivi, 10 specii au fost raportate în România și 14 în Europa. Speciile de muște prezintă diferențe importante în preferința de gazdă (SZENTIVÁNYI ET AL., 2016), prezentând un sistem model interesant pentru a studia specificitatea de gazdă. Chiar dacă există din ce în ce mai multe studii, care se concentrează asupra epidemiologiei liliecilor și chiar asupra rolului ectoparaziților acestora în transmiterea agenților patogeni, încă ne lipsesc informații importante.

Prin cercetarea mea, am încercat să contribuie la completarea acestor deficite științifice și prin urmare obiectivele acestei lucrări au fost următoarele:

- Evaluarea ecologiei ectoparaziților specifici liliecilor (sezonalitatea și specificitatea de gazdă) din Europa de Sud-Est
- Evaluarea preferințelor de selecție a gazdei și strategiile ectoparaziților
- Evaluarea celor mai importanți factori care determină ciclurile de reproducție
- Clarificarea informațiilor legate de distribuția geografică a ectoparaziților și factorilor care influențează această distribuție

- Furnizarea de noi date în ceea ce privește biologia și ecologia ectoparaziților
- Evaluarea aspectelor epidemiologice (prevalențe, niveluri de infestare) ale sistemelor ectoparaziți-lilieci
- Evaluarea factorilor care influențează parazitarea liliecilor de către ectoparaziți
- Evaluarea rolului ectoparaziților specifici liliecilor în transmiterea paraziților hemosporidieni

Prima parte a acestei teze (I. Introducere) sumarizează informațiile colectate din literatură cu privire la lilieci, bolile asociate acestora, precum și despre ecologia și epidemiologia speciilor de ectoparaziți specifici liliecilor.

A doua parte (2. Cercetarea proprie), conține un total de 9 manuscrise originale, fiind divizată din nou în două părți. În prima parte sunt studiile referitoare la căpușele specifice liliecilor (patru manuscrise), iar a doua parte este axată pe muștele specifice liliecilor (cinci manuscrise).

La sfârșitul tezei, am rezumat concluziile și în cele din urmă este bibliografia.

Primul capitol al celei de-a doua părți a acestei teze (2.1.1.) prezintă informații despre selecția și distribuția gazdei a speciilor de căpușe specifice liliecilor. Am testat dacă diferite specii de căpușe care se întâlnesc pe lilieci prezintă o sincronizare a reproducerii cu gazda, cum s-a demonstrat în alte sisteme lilieci-ectoparaziți. Deoarece ectoparaziții cu diferite moduri de transmitere pot răspunde în moduri diferite la provocările puse de gazdele lor, mă așteptam la diferențe în tiparele de infestare între speciile de căpușe cu specializare mare și căpușe mai generaliste. Studiile mele au arătat faptul că acele căpușe specifice liliecilor prezintă adaptări diferite la gazdele lor, în concordanță cu ecologia gazdelor primare, istoria vieții și organizarea socială. Aceste adaptări pot fi morfologice (picioare scurte vs. picioare lungi) și comportamentale (sezonalitate de abundență) sau doar comportamentale (sezonalitate în apariție). Deoarece nu există diferențe morfologice majore între două specii de căpușe specifice liliecilor (*I. ariadnae* vs. *I. vespertilionis*) pentru a reduce concurența interspecifică, aceste căpușe vizează grupuri diferite de specii ca și gazdă din același spațiu geografic (în interiorul aceluiași adăposturi subterane) cu asincronizarea vârfurilor activității lor, arătând astfel simpatrie geografică, dar alopatrie temporală în activitatea lor.

În cel de-al doilea capitol despre căpușele liliecilor (2.1.2.) am colectat informațiile publicate pentru cele cinci specii de căpușe din Familia Argasidae din Palearcticul de Vest, căutând date despre distribuția lor geografică, relațiile gazdă-parazit, importanța vectorială și, de asemenea, conștientizarea provocărilor viitoare prezentate de unele dintre aceste specii asupra sănătății umane. De asemenea, ne-am propus să căutăm factorii abiotici (legați de climă)

și biotici (legați de distribuția gazdei) care reglementează distribuția căpușelor specifice liliecilor din Palearcticul de Vest. Pe baza unui studiu de literatură și a 894 de înregistrări georeferențiate distincte, am prezentat gama geografică, selecția gazdei și potențialul vectorial pentru căpușele care apar în Palearcticul de Vest (în principal Europa, Africa de Nord și Orientul Mijlociu). *Argas vespertilionis* prezintă cea mai largă gamă de distribuție și a fost găsită la majoritatea speciilor gazdă, fiind omniprezent oriunde apar specii de lilieci care se odihnesc în crăpături. Toate celelalte specii au fost localizate doar în zonele climatice mediteraneene, *A. boueti*, *A. confusus* și *O. salahi* lipsind în întregime din Europa. Aceste specii au o paletă de gazde care se odihnesc în principal în peșteri, în timp ce *A. transgaripeinus* atacă și speciile din crăpături. Este cunoscut faptul că toate căpușele din această familie, cu excepția uneia (*A. confusus*), se hrănesc pe oameni și pot fi vectori ai unor agenți patogeni (*Rickettsia* spp., *Borrelia* spp., *Bartonella* spp., *Ehrlichia* spp., *Babesia* spp., și mai multe tipuri de flavivirusuri). Speciile de lilieci care se adăpostesc în crăpături arată o adaptare la zonele modificate de om, iar anumite specii au devenit comune și în orașe din Palearcticul de Vest. Prin urmare, studiul căpușelor din această familie devine important nu doar din punct de vedere evolutiv, ci și din punct de vedere epidemiologic.

În al treilea capitol (2.1.3.) am redescris și am adus informații detaliate cu privire la trăsăturile morfologice ale unei căpușe specifice liliecilor și anume *Ixodes simplex*. Masculul acestei specii a fost descris inițial în 1962, dar pe un singur exemplar deformat și uscat. Nu au existat desene și descrieri de bază ale caracterelor morfologice. Cu descrierile noastre detaliate și fotografiile atașate, sperăm că identificarea viitoare a masculului *I. simplex* va fi mai simplă.

În ultimul capitol despre căpușe specifice liliecilor (2.1.4.), raportăm primul caz european unde *I. simplex* a fost găsită atașată la om. De asemenea, am completat acest capitol cu o revizuire a cazurilor unde căpușe specifice liliecilor din Europa au fost identificate pe oameni. Căpușele, în general, sunt cunoscute ca și vectori competenți pentru o serie de boli, dar capacitatea vectorială a lui *I. simplex* este încă necunoscută. ADN-ul mai multor agenți patogeni unicelulari și bacterieni a fost deja identificat. Astfel, *I. simplex* poate fi suspectat că are rol de vector pentru unii dintre acești agenți patogeni microbieni. Deși apariția acestei specii de căpușe (și a altor căpușe specifice liliecilor) este doar accidentală (împreună cu riscul său zoonotic potențial asociat), nu suntem capabili să excludem potențialele cazuri viitoare cu creșterea continuă a turismului în peșteri și activități umane asociate în apropierea coloniilor de lilieci.

Primul manuscris din partea a doua a cercetării originale (2.2.1) se referă la sezonabilitate și la nivelurile de infestare ale speciilor de lilieci (regiunea de sud-est a Europei) cu muște și specificitatea de gazdă a acestor specii. Această evaluare raportează aceste date pentru prima dată în regiune. Mai mult, aici

ne-am propus să determinăm principalii factori care reglementează nivelul de specificitate al muștelor specifice liliiecilor. Rezultatele mele arată că prezența locală a unei comunități de gazde multiple favorizează apariția muștelor specifice liliiecilor la gazde secundare. Ca și concluzie principală a acestui manuscris este faptul că specificitatea gazdei și alegerea gazdei pentru speciile de muște sunt determinate de sezon, intensitatea infestării și de compoziția speciilor populațiilor locale de lilieci (adică absența sau prezența mai multor gazde). Alegerea gazdelor secundare în perioada de reproducere a liliiecilor temperați poate fi o alegere adaptativă pentru muștele liliiecilor, crescând astfel capacitatea de dispersie al speciilor individuale.

Al doilea manuscris despre muștele liliiecilor (2.2.2.) este o listă de verificare a speciilor de muște de lilieci din România și asociațiile lor gazdă. Recent, au fost inițiate mai multe studii care vizează liliecii și paraziții acestora, cu un număr mare de muște de lilieci colectate. Folosind datele publicate și nepublicate din propria noastră bază de date, prezentăm prima listă de verificare adnotată a muștelor de lilieci și a gazdelor acestora din România. Această listă de verificare acoperă 11 specii de muște înregistrate pe teritoriul României și, de asemenea, date despre relațiile gazdă-parazit ale acestora. În total sunt prezentate 71 de relații diferite gazdă-parazit pentru cele 11 specii de muște, cu 11 noi asociații gazdă-parazit înregistrate până acum.

Al treilea manuscris despre muștele liliiecilor (2.2.3.) raportează pentru prima dată observarea unei muște rare, și anume *Basilina italica* în România. În două ocazii de capturare separate, în aceeași locație din munții Apuseni (IC Ponor), doi indivizi de muscă au fost colectați de la doi lilieci din specia *Myotis mystacinus*, evidențiind faptul că în țară a fost prima înregistrare a acestei specii rare. Cu această înregistrare, numărul speciilor de muște de lilieci din România a crescut la 11. Acesta este o noutate și o înregistrare îndepărtată din punct de vedere geografic de distribuția cunoscută a acestei specii, care reprezintă, de asemenea, cea mai estică apariție a *B. italica*, extinzând, prin urmare, foarte mult aria geografică cunoscută anterior.

În cel de-al patrulea manuscris despre muște (2.2.4.) scopul nostru a fost de a identifica factorii care pot influența incidența fungilor Laboulbeniales hiperparazitare asupra muștelor de lilieci din sud-estul Europei (Bulgaria și România), analizând un set de date dintr-o colecție mare de muște de lilieci. Laboulbeniales (Ascomycota: Laboulbeniomycetes) sunt fungi paraziți care trăiesc pe suprafața exterioară a artropodelor, formând structura lor multicelulară numită thalus, cu parosuri corporale producătoare de ascospori (perithecia și antheridia) și haustorium, sistemul asemănător rădăcinii cu care pătrund în țesuturile gazdei și absorb nutrienți.

Am constatat că infecțiile Laboulbeniales sunt mai frecvente la muștele liliiecilor care infectează specii de lilieci cu colonii dense și stabile (*Mi. shreibersii*, *My. Myotis*, *My. Blythii*), care se află în principal în adăposturi

subterane. În interiorul acestor adăposturi, condițiile abiotice și biotice (temperatura și umiditatea ridicate) pot spori răspândirea și dezvoltarea infecțiilor fungice de către Laboulbeniales. Diferențele sexuale în comportamentul gazdei, de asemenea, un efect asupra riscului de infecție fungică, cu femelele de lilieci situate dens, găzduind mai multe muște infectate cu Laboulbeniales.

În ultimul manuscris (2.2.5.) am investigat distribuția patogenilor *Polychromophilus* spp. în Europa de Est prin testarea unei game variate de specii de lilieci din diferite locații. În acest studiu am testat, de asemenea, dacă există diferențe în infecția cu *Polychromophilus* spp. între speciile de lilieci care se adăpostesc în peșteri și cele care se adăpostesc în crăpături. Două specii de paraziți hemosporidieni, *P. murinus* și *P. melanipherus* au fost identificate în eșantioanele noastre cu prevalențe ridicate, prezentând o distribuție largă între lilieci și ectoparaziții lor în Europa de Sud-Est. Diversitatea genetică ridicată este raportată pentru ambele specii de *Polychromophilus*, cu diverse variante genetice prezente chiar și în aceeași locație, sugerând că prezența simultană a diverselor ansambluri de gazde și vectori poate spori diversitatea paraziților asemănătoare malariei.

1. WIBBELT, G., MOORE, M.S., SCHOUNTZ, T. AND VOIGT, C.C., 2010, Emerging diseases in Chiroptera: why bats?
2. MORATELLI RICARDO AND CHARLES H. CALISHER, 2015, Bats and Zoonotic Viruses: Can We Confidently Link Bats with Emerging Deadly Viruses? *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 110 (1): 1–22
3. LVOV D. K., F. R. KARAS, E. M. TIMOFEEV, YU M. TSYRKIN, S. G. VARGINA, O. V. VESELOVSKAYA, N. Z. OSIPOVA 1973. 'Issyk-Kul' Virus, a New Arbovirus Isolated from Bats and Argas (Carios) *Vespertilionis* (Latr., 1802) in the Kirghiz S.S.R., *Archiv Für Die Gesamte Virusforschung* 42 (2): 207–209
4. MCCOY KAREN D., ELSA LÉGER AND MURIEL DIETRICH, 2013, Host Specialization in Ticks and Transmission of Tick-Borne Diseases: A Review, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 3: 57
5. Hoogstraal HARRY, 1985, Argasid and Nuttalliellid Ticks as Parasites and Vectors, *Advances in Parasitology* 24 (C): 135–238
6. HUBBARD MARK J., ANNE S. BAKER AND KATHRYN J. CANN, 1998, Distribution of *Borrelia burgdorferi* s.l. Spirochaete DNA in British Ticks (Argasidae and Ixodidae) since the 19th Century, Assessed by PCR, *Medical and Veterinary Entomology* 12 (1): 89–97
7. EVANS, NICHOLAS J., KEVIN BOWN, DORINA TIMOFTE, VIC R. SIMPSON AND RICHARD J. BIRTLES, 2009, Fatal Borreliosis in Bat Caused by Relapsing Fever Spirochete, United Kingdom, *Emerging Infectious Diseases* 15(8): 1331

- 8.SOCOLOVSCHI CRISTINA, TAHAR KERNIF, DIDIER RAOULT AND PHILIPPE PAROLA, 2012, *Borrelia, Rickettsia AND Ehrlichia Species in Bat Ticks, France, 2010, Emerging Infectious Diseases* 18 (12): 1966–1975
- 9.HORNOK SÁNDOR, KRISZTINA SZÓKE, TAMÁS GÖRFÖL, GÁBOR FÖLDVÁRI, VUONG TAN TU, NÓRA TAKÁCS, JENŐ KONTSCHÁN, 2017, Molecular Investigations of the Bat Tick *Argas Vespertilionis* (Ixodida: Argasidae) and *Babesia Vesperuginis* (Apicomplexa: Piroplasmida) Reflect ‘Bat Connection’ between Central Europe and Central Asia, *Experimental and Applied Acarology* 72 (1): 69–77
- 10.SZENTIVÁNYI TAMARA, PÉTER ESTÓK AND MIHÁLY FÖLDVÁRI, 2016, Checklist of Host Associations of European Bat Flies (Diptera: Nycteribiidae, Streblidae), *Zootaxa* 4205 (2): 101–126