

Rezumat

Bolile cu transmitere vectorială au devenit un punct de interes major al cercetărilor, multe dintre acestea reprezentând o amenințare semnificativă la adresa pacienților, atât umani cât și din medicina veterinară. Cu toate că cei mai importanți paraziți cu transmitere vectorială, din punct de vedere clinic, tind să aparțină regnului Protozoa, nematodele au început să atragă atenția cercetătorilor în ultimul secol (ANDERSON, 2000). Înafara speciilor deja bine cunoscute, precum *Dirofilaria* spp. și *Onchocerca* spp., medicina modernă se confruntă cu un pericol reemergent și într-o perpetuă expansiune, reprezentată de *Thelazia* spp., *Setaria* spp. și *Parafilaria* spp. (PANAITESCU et al., 1999; ȚĂLU et al., 2012; MATHER & TREUTING, 2012; BRADBURY et al., 2018A; MARTINEZ-SANCHEZ et al., 2021; DOLFF et al., 2020). Constituind unul din taxonii unici ai nematodelor parazitare, *Thelazia* spp. reprezintă un model de co-evoluție al insectelor cu aceste nematode (OTRANTO & TRAVERSA, 2005). Acești viermi se localizează în segmentele care preced ochiul, respectiv pe suprafața conjunctivei și în canalele lacrimale. Împreună cu alți membri ai subordinului Spirurina, aceste nematode au distincția de a fi singurele pentru care muștele secretofage pot fi vectori (STOFFOLANO 1970).

Cu toate că distribuția bolii pare a fi ubicuitară, cu excepția regiunilor polare (SKRJABIN et al., 1971), iar rolul de rezervor al carnivorelor domestice și sălbatice pentru *T. callipaeda* este clar stabilit (OTRANTO & TRAVERSA, 2005; DO VALE et al., 2019), sunt necesare investigații suplimentare pentru a confirma distribuția și diversitatea de gazde actuale ale *Thelazia* spp. în ierbivore. Deși omul nu este considerat a reprezenta o gazdă importantă în ciclul biologic al nematodului, au fost raportate cazuri în medicina umană (WEI et al., 2020; BRADBURY et al., 2018A; SINGH & KHINDRIA, 2018). În majoritatea cazurilor simptomele sunt ușoare, astfel multe dintre acestea tind să fie subdiagnosticate (DJUNGU et al., 2014), facilitând transmiterea și evoluția severității bolii (NAEM, 2007). Puținele raportări din România au subliniat în mod continuu statutul de boală neglijată, iar corelat cu prevalența istorică relativ ridicată la bovinele domestice (~20%) (DULCEANU 1971) și cu creșterea diversității gazdelor (MIHALCA et al., 2016) crează o adevărată dilemă pentru clinicieni. Totodată, thelazioza a fost caracterizată ca o potențială amenințare la adresa eforturilor de reintroducere ale bizonului european (DEMIANSK & KACZOR, 2014).

Capitolul I cuprinde 3 subcapitole, sumarizând informația disponibilă în literatura de specialitate despre taxonomia, distribuția, patogeniza și diagnosticul thelaziozei, precum și evoluția istorică a acesteia în România. Subcapitolul I.1. se concentrează asupra călătoriei taxonomice a genului *Thelazia*, evidențiind poziția taxonomică în contextul nomenclurii moderne, precum și complexa evoluție istorică a acesteia. În subcapitolul I.2. se sumarizează cele mai importante specii ale genului din punct de vedere clinic, ciclul lor biologic, distribuția, patogeniza și metodele de diagnostic disponibile. Construind pe ideile prezentate în subcapitolele precedente, subcapitolul I.3. crează premiza necesară pentru a valida acest studiu, concentrându-se pe distribuția istorică a bolii în România.

Partea a II-a tezei cuprinde scopurile tezei, bazate pe patru studii originale, descriind epidemiologia, morfologia și diagnosticul *Thelazia* spp. în ierbivorele domestice și sălbatice din România. Acestea sunt mai apoi urmate de secțiunea de concluzii și recomandări, precum și de cea de originalitate a studiului. Teza este completată de secțiunea de bibliografie, care cuprinde 182 de titluri.

Prin studiul prezentat în Capitolul II.1., am stabilit prezența *T. lacrymalis* la caii din România, contribuind la stabilirea distribuției acestui nematod. Scopul acestui studiu a fost de a evalua prezența, prevalența și distribuția *T. lacrymalis* la caii din România. Ambii ochi aparținând celor 273 de cai sacrificați la două abatoare din regiunile de Nord-Vest și Vest ale României au fost examinați pentru prezența *T. lacrymalis* între martie și noiembrie 2021. Din cele 273 de animale eșantionate, 12 (4.39%) au fost pozitive pentru *Thelazia* spp. Au fost recuperate 87 de nematode, toate identificate morfologic ca *T. lacrymalis*. Intensitatea infestației a variat între 1 și 33 de nematode/animal, în timp ce cinci animale prezentau o infestație bilaterală, iar 7 unilaterală. Cea mai mare prevalență a fost întâlnită în ecoregiunea panonică (12.12%), în timp ce cea mai mică a fost în ecoregiunea alpină (0%). 75 de exemplare intacte au fost supuse unei analize morfometrice detaliate, bazată pe 18-20 parametri, rezultând diferențe semnificative între lungimile strițiilor în comparație cu datele disponibile în alte rapoarte. Analiza BLAST a identificat o similaritate de 96.46-98.60% față de singura secvență disponibilă pentru *T. lacrymalis*. În cele din urmă, prin analiza filogenetică, *T. lacrymalis* a fost inclusă într-o cladă diferită în cadrul genului.

Capitolul II.2. detaliază un studiu concentrat asupra prezenței *T. callipaeda* la iepurele de câmp european în România. Scopul acestui studiu a fost de a evalua statul de gazdă rezervor a populațiilor de *Lepus europaeus* din România, pentru *T. callipaeda*. Între noiembrie 2019 și noiembrie 2021, ochii proveniți de la 326 de cadavre de *L. europaeus* au fost examinați pentru prezența paraziților oculari. Patru (1.23%) iepuri au fost infestați cu *T. callipaeda*, cu un total de 84 de nematode colectate (intensitate medie 21 de nematode/gazdă), dintre care 45 de masculi, 39 de femele (2 imature din punct de vedere sexual, 7 doar cu ouă și 30 cu ouă și larve). Un specimen aparținând fiecărei gazde a fost secvențiat cu succes, rezultând o similaritate de 100% cu multe alte secvențe ale haplotipului 1 de *T. callipaeda*. În ciuda prevalenței reduse, *Lepus europaeus* pare a fi o gazdă rezervor pentru boală. Studiul reprezintă și singura analiză cantitativă a distribuției lui *T. callipaeda* la lagomorfe.

Construim pe premisele celor două studii anterioare, prin Capitolul II.3., ne-am propus să furnizăm o descriere epidemiologică, morfologică și moleculară detaliată a *T. rhodesi*, *T. gulosa* și *T. skrjabini*. Ochii a 705 bovine sacrificate au fost colectați și supuși identificării morfologice, urmate de analiza morfometrică și caracterizarea moleculară. Amplificarea prin PCR și analiza secvențelor s-au bazat pe gena COI. S-a dezvoltat o nouă metodă de PCR bazată pe secvența consens din fiecare specie. Au fost proiectați primeri specifici pentru fiecare dintre cele trei specii, iar un primer reverse (COIintR) a fost utilizat pentru toate reacțiile. Un profil termic consens a fost stabilit prin amplificarea gradientului PCR a fiecărei specii în mod individual. Prevalența infestației a fost de 19.3%, variind semnificativ în funcție de factorii ecogeografici. Au fost recuperate în total 585 de nematode aparținând genului *Thelazia*, *T. rhodesi* fiind cel mai abundent, urmat de *T. skrjabini* și *T. gulosa*. Analizele morfometrice și moleculare au confirmat identificarea morfologică, generând secvențe unice pentru fiecare specie. Studiul furnizează cea mai detaliată analiză filogenetică a genului, servind și ca bază pentru o nouă metodă PCR multiplex, capabilă să diagnosticheze cu succes infestațiile cu una sau mai multe specii de *Thelazia*. În ultimul rând, studiul subliniază severitatea lacunelor de cunoștințe în cadrul bolilor neglijate, comparând prevalența istorică din Europa cu cea obținută în studiul actual, evidențiindu-se astfel similitudinea valorilor în ciuda produselor terapeutice moderne.

Concluzionând teza, studiul în pregătire detaliat în Capitolul II.4. s-a concentrat pe prezența a două dintre cele trei specii cunoscute de *Thelazia* la bovine, infestând bizonul european sălbatic și bizonul american. Între noiembrie 2021 și ianuarie 2023, ambii ochi aparținând celor 7 bizoni americani (5 sacrificați la ferma de apartenență, 2 aduși la Departamentul de Patologie după deces), din două locații diferite din România, au fost colectați și examinați pentru prezența viermilor oculari. În plus, doi zimbri europeni, originari din zonele de reintroducere, au fost, de asemenea, examinați, în timpul necropsiei de rutină. Trei dintre cei 7 bizoni americani examinați erau infestați cu *Thelazia*, în timp ce ambii zimbri europeni au fost diagnosticați pozitiv pentru boală. În total au fost recuperate 38 de nematode din sacii conjunctivali și ductele lacrimale ale animalelor. Două specii au fost identificate morfologic atât la zimbrul american, cât și la cel european: *T. skrjabini* și *T. rhodesi*. Studiul reușește să stabilească prezența bolii în ambele specii, adăugând mai multe secvențe noi de *T. rhodesi* și *T. skrjabini* în Genbank. Mai mult, construind pe studiul anterior, subliniază importanța animalelor domestice ca potențiale rezervoare pentru boală, subminând eforturile de reintroducere ale zimbrului european susceptibil.

Referințe

1. ANDERSON, R.C., 2000. Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission, 2nd ed.; CABI Publishing: Guilford, UK.
2. PANAITESCU, D., PREDA, A., BAIN, O., VASILE-BUGARIN, A.C., 1999. Four cases of human filariasis due to *Setaria labiatopapillosa* found in Bucharest, Romania. *Roumanian Archives of Microbiology and Immunology*. 58(2):203-207.
3. ȚĂLU, S.D., ȘTEFĂNUȚ, A.C., MIHALCA, A.D., COROIU, Z. 2012. Subconjunctival infestation with *Setaria*. 2012. *Helminthologia*. 49:119-121.
4. MATHER, C., TREUTING, P., 2012. *Onchocerca armillata* contamination of a bovine pericardial xenograft in a human patient with repaired tetralogy of Fallot. *Cardiovasc Pathol*. 12(3): e35-e38.
5. BRADBURY, R.S., BREEN, KV., BONURA, EM., HOYT, JW., BISHOP, HS., 2018A. Case Report: Conjunctival Infestation with *Thelazia gulosa*: A novel Agent of Human *Thelaziasis* in the United States. *Am J Trop Med Hyg*. 98(4).

6. MARTINEZ-SANCHEZ, M.I., BOLIVAR-DE-MIGUEL, G., CUADROS-GONZALES, J., GONZALES, J.M.R., 2021. Ocular thelaziosis: A case report of an emerging zoonosis. *Am. J. Ophth. Case Reports*. 22.
7. DOLFF, S., KEHRMANN, J., EISERMANN, P., DALBAH, S., TAPPE, D., RATING, P., 2020. Case Report: *Thelazia callipaeda* eye Infection: The first human case in Germany. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 102: 350–351.
8. OTRANTO, D., TRAVERSA, D., 2005. *Thelazia* eyeworm: an original endo- and ecto-parasitic nematode. *Trends Parasitol.* 21(1), 1–4.
9. STOFFOLANO, G., 1970. Nematodes associated with the genus *Musca* (Diptera: Muscidae). *Bulletin of the Entomological Society of America*. 16(4): 194-203.
10. SKRJABIN, K.I., SOBOLEY, A.A., IVANSHKIN, V.M., 1967. Spirurata of animals and man and the diseases caused by them Part 4: Thelazioidea. In: Skrjabin KI, editor. *Essentials of Nematodology*. Vol. XVI. Moscow, Russia: Academy of Sciences of the USSR; p. 24–32.
11. DO VALE, D., LOPES, A.P., FONTES, M.D.C., SILVESTRE, M., CARDOSO, L., COELHO, A.C., 2020. Systematic review on infection and disease caused by *Thelazia callipaeda* in Europe: 2001–2020. *Parasite*, 11: 98.
12. WEI, X., LIU, B., LI, Y., WANG, K., GAO, L., YANG, Y., 2020. A human corneal ulcer caused by *Thelazia callipaeda* in Southwest China: Case report. *Parasitol. Res.*, 119: 3531–3534.
13. SINGH, K., KHINDRIA, A., 2018. First case of Human Ocular *Thelaziasis* from India caused by *Thelazia californiensis*: A case report. *IOSR-JDMS*. 17(1): 24-27.
14. DJUNGU, D.F.L., RETNANI, E.B., RIDWAN, Y., 2014. *Thelazia rhodesii* infection in cattle in Kupang District. *Trop Biomed.* 31(4): 844–852.
15. NAEM, S., 2007. Morphological differentiation among three *Thelazia* species (Nematoda: Thelaziidae) by scanning electron microscopy. *Parasitol Res.* 101: 145-151.
16. DULCEANU, N., 1971. Cercetari cu privire la localizarea speciilor si intensivitatea infestatiei cu thelazii la taurine. *Lucrari stiintifice, Inst. Agronomic*.
17. MIHALCA, A.D., IONICA, A.M., D'AMICO, G., DASKALAKI, A.A., DEAK, G., MATEI, I.A., SIMONCA, V., IORDACHE, D., MODRÝ, D., GHERMAN, C.M., 2016. *Thelazia callipaeda* in wild carnivores from Romania: New host and geographical records. *Parasites Vectors*, 9: 350.
18. DEMIASZKIEWICZ, A.W., KACZOR, S., 2015. Przypadek telazjozy u żubra w Bieszczadach. *Życie Wet.*, 90:108–110.