
TEZĂ DE DOCTORAT

Ameliorarea bunăstării porcilor crescuți în sisteme de producție cu aport redus prin controlul paraziților digestivi cu ajutorul unor plante aromatice și **medicinale.** (Rezumatul tezei doctorale)

Doctorand: **Mihai-Horia Băieș**

Conducător de doctorat: **Prof. dr. Vasile Cozma**

Membru titular al Academiei de Științe Agricole și Silvicultură București

Membru onorific al Academiei Oamenilor de Știință din România



REZUMAT

Bolile parazitare au un impact semnificativ asupra sistemelor de producție porcine, ducând la pierderi economice importante datorate în principal morbidității și mortalității ridicate. Acest lucru reprezintă o provocare substanțială pentru gestionarea eficientă și profitabilă a creșterii animalelor (LAI și colab., 2011; KOCHANOWSKI și colab., 2017). În sistemele de producție extensive, parazitozele complică și întrețin adesea bolile bacteriene și virale, contribuind la deteriorarea sănătății porcilor (POPIOLEK și colab., 2009). În România, majoritatea porcilor sunt crescuți în sisteme cu aport redus, o tendință care a crescut în ultimele decenii (ICHIM, 2012). Aceste ferme, caracterizate printr-o intervenție tehnologică minimă, își propun să promoveze sustenabilitatea economică și ecologică (POUX, 2008). Paraziții digestivi reprezintă o preocupare majoră pentru bunăstarea și sănătatea porcului în sistemele de creștere cu aport redus (EIJCK și colab., 2005).

Datorită creșterii rezistenței la moleculele antiparazitare clasice, remediile fitoterapeutice s-au dovedit niste alternative plauzibile pentru prevenirea și tratarea parazitozelor gastrointestinale. Cu toate acestea, doar câteva dintre aceste remedii naturale au fost validate științific (AL-SNAFI, 2016; ZAJÍČKOVÁ și colab., 2020). În România, creșterea porcilor în sisteme cu aport redus se bazează adesea pe fitoterapia tradițională pentru controlul patogenilor la animale (BĂIEȘ și colab., 2023). Prin urmare, micii fermieri și producătorii organici se confruntă cu provocări semnificative în acest sens. Integrarea fitoterapiei tradiționale și a practicilor de creștere prin abordări etno-veterinare ar putea servi drept un mijloc de dezvoltare sustenabilă. Utilizarea remediilor fitoterapeutice a câștigat popularitate în ultimul deceniu datorită bio-disponibilității, toxicității reduse și a lipsei de poluare a mediului înconjurător, ai acestor compuși naturali. În timp ce fitoterapeuticele sunt utilizate în întreaga lume, dovezi ale eficacității lor antiparazitare rămân limitate (URBAN și colab., 2008; AĆIMOVIĆ și colab., 2016; BEIGH și GANAI, 2017; AHMED și colab., 2018).

Prima parte a tezei (I. Stadiul actual al cunoașterii) este formată din patru capitole, în care se prezintă date rezumate actualizate ale informațiilor disponibile din literatura de specialitate despre următoarele subiecte:

- Principalele parazitoze digestive ale porci crescuți în sisteme de producție cu aport redus (I.1);
- Plante medicinale cu potențial antiparazitar la porci (*Sus scrofa domesticus*) (I.2);
- Sisteme de creștere cu aport redus ale porcilor din România (I.3);
- Rase autohtone de porci din România (I.4);

Partea a doua a tezei (II. Contribuția personală) este formată din 6 studii originale concentrate pe evaluarea, atât *in vitro*, cât și *in vivo*, a potențialului antiparazitar ale lui *Allium sativum* (usturoi), *Artemisia absinthium* (pelin), *Cucurbita pepo* (dovleac), *Coriandrum sativum* (coriandru), *Calendula officinalis* (gălbenele) și *Satureja hortensis* (cimbru), asupra paraziților gastrointestinali naturali ai porcilor. Această cercetare a fost efectuată în două ferme free-range (cu aport redus) situate în Transilvania. De asemenea, s-a evaluat și prevalența parazitărilor din aceste ferme. 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 441 de referințe.

Primul capitol al celei de-a doua părți (II.1) prezintă profilul parazitărilor sezonier al porcinelor crescute în două ferme free-range din Transilvania, împărțite în trei grupe de vârstă. Nouă sute șazeci de probe de fecale colectate de la purcei, grășuni și scroafe au fost examinate prin flotație, sedimentare activă, metoda Ziehl-Neelsen modificat de Henricksen, metoda Blagg modificată și culturi de oochisturi/ouă. Numărul de oochisturi (OPG), chisturi (CPG) și ouă (EPG) a fost numărat per gram de materie fecală. Examinarea a relevat infecții parazitare cu *Balantioides coli* (*syn. Balantidium coli*), *Eimeria* spp., *Ascaris suum*, *Trichuris suis*, *Oesophagostomum* spp., *Strongyloides ransomi* și *Cryptosporidium* spp. Prevalența (P) și intensitatea medie (MI) a infecțiilor au variat în funcție de categoria de vârstă, fermă și sezon. Prevalența totală în ambele ferme free-range în funcție de categoria de vârstă a fost de 63.2% - *Eimeria* spp., 70.31% - *B. coli*, 9.38% - *Oesophagostomum* spp., 3.75% - *S. ransomi*, și 18.12% - *Cryptosporidium* spp. la purcei. La grășuni, *Eimeria* spp. a prezentat o prevalență de 50.93%, *B. coli* - 72.5%, *A. suum* - 63.13%, *T. suis* - 39.06%, iar la scroafe, *Eimeria*

spp. - 39.06%, *B. coli* - 62.19%, *A. suum* - 34.06%, *Oesophagostomum* spp. - 27.19%, *S. ransomi* - 1.56% și *Cryptosporidium* spp. - 9.38%. Studiul a relevat diferențe statistice semnificative ($p < 0.05$) între grupele de vârstă, sezoane și ferme pentru toți paraziții diagnosticați. Sunt necesare cercetări suplimentare pentru o mai bună înțelegere a epidemiologiei acestor infecții parazitare la suinele din Transilvania.

Al doilea capitol al celei de-a doua părți (II.2) conține două studii și prezintă potențialul antiparazitar *in vitro* a șase extracte alcoolice de plante împotriva oochisturilor de *Eimeria* spp. și a ouălor de *A. suum*. Primul studiu (II.2.1) și-a propus să evalueze comparativ, *in vitro*, efectele antiparazitare ale lui *A. sativum*, *A. absinthium*, *C. pepo*, *C. sativum*, *S. hortensis* și *C. officinalis* asupra eclozării și dezvoltării larvare a ouălor de *A. suum*. Ouăle de *A. suum* au fost prelevate din probele de fecale colectate de la suine crescute în mod tradițional. Suspensia de ouă (ES, 12×10^3 /mL) a fost împărțită în două loturi martor (C) (1C - 1 mL ES + 1 mL apă distilată, respective 2C - cinci plăci de 1 mL ES + 1 mL etanol de 70%, 35%, 17.5%, 8.75% și 4.375%,) și șase grupuri experimentale, care au fost introduse în plăci Elisa cu capacitatea de 3 mL. Grupurile experimentale (EG, 1-6) au inclus ES + fiecare extract alcoolic de plantă (10%, 5%, 2.5%, 1.25%, 0.625%). Atât C, cât și EG au fost realizate în cinci replicat. Toate variantele au fost incubate la 27 °C timp de 21 de zile. Ouăle de *A. suum* au fost examinate după 2, 14 (L1) și 21 (L2/L3) de zile de incubație. Eficacitatea tuturor extractelor de plante testate a crescut odată cu concentrația. Efectele anti-embriogenetice asupra ouălor de *A. suum* au fost exprimate de către toate plantele. Extractele alcoolice de *A. sativum*, *A. absinthium* L., *C. pepo* și *S. hortensis*, au avut o eficacitate antiparazitară crescută, la toate concentrațiile testate. Extractele de *A. sativum* și *A. absinthium* au prezentat cea mai puternică activitate antihelmintică, în timp ce *C. sativum* și *C. officinalis* au avut cele mai slabe efecte acaricide. Studii fitochimice în profunzime sunt necesare pentru identificarea compușilor responsabili de proprietățile antihelmintice ale acestor specii de plante.

Al doilea studiu al acestui capitol (II.2.2) și-a propus să evalueze efectele extractelor alcoolice din usturoi, pelin, coriandru, dovleac, cimbru și gălbenele asupra sporulării oochisturilor de *Eimeria suis* și *Eimeria deblickei*, izolate de la porci. Soluția stock de oochisturi (58% *E. suis* + 42% *E. deblickei*) a fost incubată timp de trei zile, înainte de adăugarea extractelor de plante supuse testării. Oochisturile nesporulate de *Eimeria* spp. au fost apoi introduse în plăci Elisa cu godeuri cu capacitatea de 3 mL și incubate timp de 96 de ore la 27 °C, într-o suspensie care conținea diluții seriate ale extractelor alcoolice de plante (5%, 2.5%, 1.25%, 0.625%, și 0.312%). Procentajul de oochisturi sporulate și distruse a fost înregistrat la fiecare 24 de ore timp de 96 de ore. Toate extractele au avut *in vitro*, un bun efect anticoccidian împotriva oochisturilor de *Eimeria* spp. comparativ cu grupurile martor. Sporularea oochisturilor a fost semnificativ ($p = 0.05$) inhibată de extractul de gălbenele la concentrația 5% (3.6% oochisturi sporulate). Același extract a avut cel mai puternic efect litic asupra oochisturilor (65.2% oochisturi distruse). Rezultatele noastre demonstrează că extractul de gălbenele este cel mai eficient extract de plante alcoolice, urmat, în ordinea eficienței, de extractele de pelin, coriandru, usturoi, dovleac și cimbru. Acest studiu reprezintă o contribuție preliminară la stabilirea unei noi generații de dezinfectanți naturali mențiți să distrugă oochisturile de *Eimeria* ale porcilor.

Al treilea capitol al celei de-a doua părți (II.3) conține trei studii referitoare la efectele antiparazitare *in vivo* a șase plante românești, împotriva paraziților digestivi ai suinelor. Primul studiu (II.3.1) și-a propus să evalueze potențialul antiparazitar al lui *C. pepo* și *C. sativum* împotriva protozoarelor și nematodelor identificate la porci. Probele de fecale au fost colectate de la porci, grăsuți și scroafe și au fost examinate prin flotație (Willis și McMaster), sedimentare activă, colorare Ziehl-Neelsen modificată de Henricksen, metoda Blagg modificată și culturi de ouă/oochisturi. Speciile de paraziți diagnosticate au fost *Ascaris suum*, *Trichuris suis*, *Oesophagostomum* spp., *Balantioides coli*, *Eimeria* spp. și *Cryptosporidium* spp., depinzând de categoria de vârstă. O doză de 500 mg/kg greutate corporală/zi de pulbere de *C. pepo* și 170 mg/kg greutate corporală/zi de pulbere de *C. sativum*, administrată timp de zece zile consecutive, a demonstrat un efect antihelmintic (dovleac) și antiprotozoar (coriandru) pronunțat împotriva paraziților menționați. Sunt necesare studii viitoare pentru a stabili doza optimă care maximizează eficacitatea lor antiparazitară. Studiul actual reprezintă primul raport românesc referitor la activitatea antiparazitară *in vivo* a acestor două plante testate împotriva paraziților digestivi ai porcilor.

Al doilea studiu al acestui capitol (II.3.2) și-a propus să evalueze activitatea antiparazitară *in vivo* a pulberilor de *C. officinalis* și *S. hortensis* împotriva paraziților digestivi ai porcilor, în două ferme cu aport redus din zona Transilvaniei. Probele de fecale au fost colectate de la scroafe, grăsuți și purcei și au fost testate folosind următoarele metode coproparazitologice: sedimentare activă (centrifugare), flotație (Willis, McMaster), colorare Ziehl-Neelsen modificată de Henricksen, metoda Blagg modificată și culturi de larve de nematode/oochisturi de protozoare. Sase specii de paraziți digestivi au fost diagnosticate, respectiv *Ascaris suum*, *Trichuris suis*, *Oesophagostomum* spp., *Balantioides coli*, *Eimeria* spp. și *Cryptosporidium* spp., în diverse combinații, în funcție de categoria de vârstă. O doză de 140 mg/kg greutate corporală/zi de pulbere de *C. officinalis* și 100 mg/kg greutate corporală/zi de pulbere de *S. hortensis*, administrată timp de 10 zile consecutive, a relevat o puternică activitate antiprotozoară și antihelmintică asupra paraziților menționați. Eficacitatea curativă poate fi atribuită prezenței de polifenoli, steroli, tocoferoli și flavone metoxilate. În concluzie, rezultatele noastre indică faptul că *S. hortensis* și *C. officinalis* sunt alternative promițătoare ale antiparazitarelor clasice, putând să fie utilizate ca produse antiparazitare naturale împotriva paraziților gastrointestinali ai porcilor.

Al treilea studiu al acestui capitol (II.3.3) s-a concentrat pe explorarea potențialului antiparazitar al usturoiului (*A. sativum*) și pelinului (*A. absinthium*), plante native din flora României și renumite pentru numeroasele lor proprietăți benefice împotriva paraziților gastrointestinali prezenți în mod natural la porci. Experimentul a avut loc în două ferme cu aport redus (free-range) din nord-vestul României. Examinarea a confirmat prezența infecțiilor cu *Eimeria* spp., *Cryptosporidium* spp., *Balantioides coli*, *Ascaris suum*, *Oesophagostomum* spp., *Strongyloides ransomi* și *Trichuris suis*, depinzând de categoria de vârstă a porcilor. O doză de 180 mg/kg greutate corporală/zi de pulbere de *A. sativum* și 90 mg/kg greutate corporală/zi de pulbere de *A. absinthium*, administrată timp de 10 zile consecutive, a relevat o puternică activitate antiprotozoară și antihelmintică. Rezultatele au evidențiat potențialul terapeutic al atât al usturoiului cât și al pelinului împotriva paraziților gastrointestinali ai porcilor. Eficacitatea lor terapeutică poate fi atribuită conținutului de polifenoli, tocoferoli, flavonoide, steroli, lactone sesquiterpenice și sulfoxizi. Sunt necesare cercetări suplimentare pentru a stabili doza minimă eficientă a ambelor plante împotriva paraziților digestivi întâlniți la suine.

Bibliografie:

1. AĆIMOVIĆ, M.G., KOSTADINOVIĆ, L.M., PUVAČA, N.M., POPOVIĆ, S.J., UROŠEVIĆ, M.I., 2016. Phytochemical constituents of selected plants from Apiaceae family and their biological effects in poultry. *Food & Feed Research* 43, 35–41.
2. AHMED E.H., ABADI R.S., MOHAMMED A.M., 2018. Phytochemical screening, chemical composition and antioxidant activity of seeds essential oil of *Coriandrum sativum* L. from the Sudan. *International Journal of Herbal Medicine* 6, 1–4.
3. AL-SNAFI, A.E., 2016. A review on chemical constituents and pharmacological activities of *Coriandrum sativum*. *IOSR Journal of Pharmacy* 6, 17–42.
4. BĂIEȘ, M.H., COTUȚIU, V.D., SPÎNU, M., MATHE, A., COZMA-PETRUȚ, A., MIERE, D., BOLBOACĂ, S.D., COZMA, V., 2023. The effects of *Coriandrum sativum* L. and *Cucurbita pepo* L. against gastrointestinal parasites in swine: An *in vivo* study. *Microorganisms* 11, 1230.
5. BEIGH, Y.A., GANAI, A.M., 2017. Potential of wormwood (*Artemisia absinthium* Linn.) herb for use as additive in livestock feeding: A review. *The Pharma Innovation* 6, 176–187.
6. EIJCK, I.A.J.M., BORGSTEEDE, F.H.M., 2005. A survey of gastrointestinal pig parasites on free-range, organic and conventional pig farms in The Netherlands. *Veterinary Research Communications* 29, 407–414.
7. ICHIM, O., 2012. An overview of organic pig farming in Romania. *Porcine Research* 2, 50–65.

8. KOCHANOWSKI, M., KARAMON, J., DĄBROWSKA, J., DORS, A., CZYŻEWSKA-DORS, E., CENCEK, T., 2017. Occurrence of intestinal parasites in pigs in Poland-the influence of factors related to the production system. *Journal of Veterinary Research* 61, 459–466.
9. LAI, M., ZHOU, R.Q., HUANG, H.C., HU, S.J., 2011. Prevalence and risk factors associated with intestinal parasites in pigs in Chongqing, China. *Research in Veterinary Science* 91, 121–124.
10. POPIOLEK, M., KNECHT, D., BORUTA, O., KOT, M., 2009. Effect of breeding conditions, phenology, and age on the occurrence of helminths in pigs. A preliminary study. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 53, 213–220.
11. POUX, X., 2008. Low input farming systems in Europe: What is at stake. In *Low Input Farming Systems: An Opportunity to Develop Sustainable Agriculture, Proceedings of the JRC Summer University Rancho, 2–5 July 2007*; Office for Official Publications of the European Communities: Luxembourg, pp. 1–11.
12. URBAN, J., KOKOSKA, L., LANGROVA, I., MATEJKOVA, J., 2008. *In vitro* anthelmintic effects of medicinal plants used in Czech Republic. *Pharmaceutical Biology* 46, 808–813.
13. ZAJÍČKOVÁ, M., NGUYEN, L.T., SKÁLOVÁ, L., STUHLÍKOVÁ, L.R., MATOUŠKOVÁ, P., 2020. Anthelmintics in the future: Current trends in the discovery and development of new drugs against gastrointestinal nematodes. *Drug Discovery Today* 25, 430–437.