TEZA DE DOCTORAT

**Leishmanioza la câine și pisica în Creta, Grecia** (rezumatul tezei doctorale)

Doctorandă **Smyrli Anastasia**

Conducător de doctorat **Prof. univ. Dr. Cozma Vasile, PhD**
Membru titular al Academiei de Ştiințe Agricole și Silvice Bucureşti
Membru onorific al Academiei Oamenilor de Ştiință din România

****

# Rezumat

Leishmanioza este o boală parazitară zoonotică de mare importanță, cauzată de protozoare din genul *Leishmania*, transmisă în principal prin mușcătura femelelor de flebotomi (Gramiccia et al., 2011). Această teză de doctorat oferă o prezentare detaliată a bolii în contextul regiunii Heraklion, Creta, concentrându-se pe etiologia, patogeneza, dinamica transmiterii, manifestările clinice, metodele de diagnostic, protocoalele terapeutice și strategiile preventive, atât la oameni, cât și la animale. La câini, care reprezintă principalul rezervor domestic, boala este cauzată predominant de *Leishmania infantum* și se manifestă printr-un spectru clinic polimorf, ce variază de la infecții asimptomatice până la afecțiuni sistemice severe (Solano-Gallego L. et al., 2009). Principalii vectori în Creta sunt *Phlebotomus neglectus* și *P. similis* (Ligda P. et al., 2023), în timp ce o specie recent identificată, *Ph. creticus,* poate reprezenta un nou vector cu importanță epidemiologică (Dvorak et al., 2020). La oameni, leishmanioza se prezintă sub trei forme: cutanată, mucocutanată și viscerală, cea viscerală (VL) fiind cea mai severă (cdc.gov). Metodele de diagnostic se bazează pe citologie, serologie (ex: IFAT, ELISA), PCR și histopatologie, PCR-ul oferind cea mai mare sensibilitate pentru detectarea infecției active (Guerin Philippe et al., 2002; Nieto C.G. et al., 1992; Solano-Gallego Laia et al., 2009; Tryphonas L. et al., 1977). Opțiunile terapeutice variază în funcție de specie și severitatea bolii, implicând frecvent utilizarea de allopurinol, miltefosină, antimoniat de meglumină și amfotericină B lipozomală. Totuși, tratamentul este adesea complicat de toxicitate, rezistența la medicamente și lipsa unor terapii parazitologice curative (Solano-Gallego Laia et al., 2011; ghidurile LeishVet).

Prevenția la animale se axează pe controlul vectorilor cu ajutorul insecticidelor și repelentelor (zgărzi și soluții spot-on), vaccinare (Letifend®) și educarea proprietarilor. De asemenea, domperidona (Leishguard®) este o substanță nouă utilizată pentru tratamentul și prevenirea bolii (ghidurile LeishVet). Endemicitatea bolii în Creta, apariția unor vectori noi și posibilitatea transmiterii verticale și veneriană la câini, alături de creșterea cazurilor la feline și oameni, subliniază importanța implementării unor strategii integrate de supraveghere și control, bazate pe abordarea One Health.

Prima parte a tezei este alcătuită dintr-un capitol care oferă o imagine de ansamblu actualizată asupra literaturii științifice privind aspectele generale ale leishmaniozei canine, feline și umane, concentrându-se pe agentul etiologic, patogeneză, vectori și gazdele receptive, imunitatea la animalele afectate, transmiterea bolii, studiul clinic la câini și pisici, metodele de diagnostic, protocoalele terapeutice și metodele preventive utilizate. A doua parte (II – cercetare originală) cuprinde 5 capitole care vizează: evaluarea particularităților de mediu în studiul leishmaniozei canine și feline pe insula Creta în corelație cu utilizarea testelor de diagnostic; o prezentare generală a testelor clinice și paraclinice pentru leishmanioza canină și felină, destinată practicienilor veterinari; determinarea prevalenței infecției cu *L. infantum* în populația felină din Heraklion, Creta; analiza epidemiologică, clinică, diagnostică și terapeutică a leishmaniozei canine în Creta, Grecia; precum și corelațiile dintre manifestările clinice, parametrii hematologici și biochimici și titrul IFAT la câinii infectați cu *Leishmania infantum* în Heraklion, Creta.

Această cercetare a fost desfășurată pe insula Creta, Grecia, iar referințele citate însumează un total de 244 de titluri. În partea de cercetare originală se prezintă, initial, ipoteza de luctru , obiectivele cercetării. În continuare, se prezintă insula Creta, corelat cu utilizarea testelor de diagnostic. În acest studiu, s-a aplicat un protocol standard pentru fiecare pacient care a intrat în clinică cu simptome de leishmanioză. În primul rând, s-a efectuat un examen clinic, iar chestionarul (anexa 1) a fost completat de către proprietar sau îngrijitor. Apoi, s-a efectuat un test rapid pentru a confirma boala. În majoritatea cazurilor s-a folosit un test cvadruplu, pentru a evalua dacă sunt prezente și alte boli transmise prin vectori (ehrlichioză, anaplazmoză, dirofilarioză). Dacă testul era pozitiv, se continua cu prelevarea de sânge și analiza profilului hematologic și biochimic. Pentru majoritatea pacienților, s-a determinat titrul de anticorpi IgG prin metoda Imunofluorescenței Indirecte (efectuată într-un laborator specializat din Atena). În final, s-a utilizat tehnica PCR în timp real (qPCR) pentru a evalua prezența bolii în sânge sau în probe recoltate cu tampon conjunctival. De asemenea, în acest capitol sunt descrise tehnica de lucru și principiile fiecărei metode utilizate, precum și valorile normale pentru profilurile hematologic și biochimic.

Capitolul următor oferă o prezentare cuprinzătoare a metodelor clinice și paraclinice de diagnostic pentru leishmanioza canină și felină, adaptate pentru practicienii veterinari. Diagnosticul se bazează pe o abordare integrată care include: date epidemiologice, examen clinic, profiluri hematologice și biochimice, markeri ai răspunsului imun și tehnici de diagnostic specializate. Testele efectuate în clinică, cum ar fi testele imunocromatografice, oferă rezultate rapide, în timp ce metodele avansate — inclusiv citologia, histologia, serologia (ELISA, IFAT) și diagnosticul molecular (PCR, qPCR) — îmbunătățesc precizia diagnosticului și monitorizarea tratamentului. Progresele recente evidențiază biomarkeri promițători și instrumente de diagnostic inovatoare precum ELISA plasmonic, citometria în flux multiplex și CatLeish-PCR. Aceste inovații urmăresc să îmbunătățească sensibilitatea, specificitatea și detectarea precoce a bolii. Recenzia subliniază importanța strategiilor de diagnosticare, luând în considerare istoricul animalului, prevalența regională și prezentarea clinică, pentru a asigura un control eficient al bolii.

Capitolul 2.3. reprezintă o lucrare originală și tratează leishmanioza felină (FeL) în Creta. Este primul studiu despre leishmanioza felină realizat pe insula Creta. FeL este cauzată în principal de *Leishmania infantum* și reprezintă o preocupare zoonotică emergentă în regiunile mediteraneene. Studiul a avut ca scop evaluarea prevalenței *L. infantum* în rândul pisicilor domestice și fără stăpân din Heraklion, Creta, o zonă cunoscută ca endemică. În total, au fost prelevate probe de la 253 de pisici între 2018 și 2023, din zone urbane și rurale. Probele de sânge și de tampoane conjunctivale au fost analizate prin PCR cantitativ în timp real. Rata generală de pozitivitate a fost de 5,9%, cu o prevalență mai mare la pisicile care trăiesc în aer liber și la cele de sex masculin. Este important de menționat că infecțiile au fost detectate atât în sânge, cât și în probele conjunctivale, subliniind utilitatea combinării tehnicilor de diagnostic neinvazive în supravegherea epidemiologică. Studiul evidențiază rolul pisicilor ca posibile rezervoare secundare și accentuează importanța monitorizării regulate, controlului vectorilor și conștientizării publicului, în special în zonele turistice. Sunt necesare strategii preventive mai largi pentru a limita răspândirea *L. infantum* și pentru a proteja sănătatea animală și publică. În capitolul 2.4., scopul a fost evaluarea situației epidemiologice, a manifestărilor clinice, a metodelor de diagnostic și a strategiilor de tratament pentru CanL în Heraklion, Creta. Au fost incluși 94 de câini examinați între 2017 și 2022, pentru care s-au colectat și analizat date clinice, hematologice, biochimice, serologice și moleculare. Majoritatea câinilor au prezentat semne sistemice precum apatie (91,5%), pierdere în greutate (89,4%) și limfadenopatie (79,8%), iar 72,1% au prezentat leziuni cutanate. Anomaliile de laborator au inclus anemie, trombocitopenie, hiperproteinemie și valori crescute ale markerilor renali și hepatici. Diagnosticul a fost confirmat folosind teste rapide serologice și imunofluorescență indirectă (IFAT), în timp ce qPCR-ul efectuat pe sânge și tampoane conjunctivale a arătat o pozitivitate mai mare în probele conjunctivale (90,7%) comparativ cu cele de sânge (76,7%). Tratamentul de elecție a inclus combinații de allopurinol cu antimoniat de meglumină sau miltefosină, cu domperidonă ca terapie adjuvantă. Acest studiu confirmă caracterul endemic al CanL în Creta, subliniind necesitatea monitorizării periodice, a controlului vectorilor și a conștientizării sănătății publice. Diagnosticul molecular, în special utilizând probe conjunctivale, s-a dovedit a fi extrem de eficient pentru screening-ul epidemiologic.

În capitolul cinci (II.5), scopul a fost consolidarea rolului semnificativ al titrurilor IFAT în gestionarea clinică a leishmaniozei canine, demonstrând o corelație pozitivă puternică între nivelul anticorpilor și severitatea bolii. Titrurile ridicate indică un răspuns imun accentuat și o încărcătură parazitară mai mare, asociate adesea cu manifestări clinice și anomalii de laborator mai pronunțate. Aceste constatări evidențiază valoarea diagnostică și prognostică a testelor serologice, în special a testului IFAT, în stadializarea bolii și în orientarea deciziilor terapeutice. Integrarea rezultatelor IFAT cu datele clinice și de laborator permite o abordare mai individualizată și mai eficientă a tratamentului și monitorizării. Sunt necesare cercetări longitudinale suplimentare pentru a elucida relația temporală dintre dinamica anticorpilor și evoluția bolii, contribuind astfel la un control mai eficient al afecțiunii și la îmbunătățirea rezultatelor atât în practica veterinară, cât și în contextul sănătății publice.

# Bibliografie

1. Dvořák V., Tsirigotakis N., Pavlou C., Dokianakis E., Akhoundi M., Petr Halada., Volf P., Depaquit J. and Antoniou M., (2020). Sand fy fauna of Crete and the description of Phlebotomus (Adlerius) creticus n. sp. (Diptera: Psychodidae). DOI:10.1186/s13071-020-04358-x
2. Gramiccia Marina (2011), Recent advances in Leishmaniosis in pet animals: epidemiology, diagnostics and anti-vectorial prophylaxis. PMID: 21570192 DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.04.019
3. Guerin Philippe J.,Olliaro P.,Sundar S.,Boelaert Marleen,Croft S.L.,Desjeux P.,Wassuna K. Monique,Bryceson A.D.M., (2002), Visceral Leishmaniasis:current status of control,diagnosis and treatment,and a proposed research and development agenda,The Lancet infectious Diseases,Vol.2,pag.494-501. PMID: 12150849 DOI: 10.1016/s1473-3099(02)00347-x
4. Ligda P., Gizzarelli M., Kostopoulou D., Foglia Manzillo V., Saratsis A., Saratsi K., Michler S., Ringeisen H, Boegel A., Schunack B., Pollmeier M., Kontrafouris M., Tsatsaki O., Oliva G., Sotiraki S. (2023), Determination of the effect of collars containing 10% w/w imidacloprid and 4.5% w/w flumethrin (Seresto®) on the incidence of Leishmania and other canine vector-borne pathogen infections in Greece, parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-023-05678-4, DOI: 10.1186/s13071-023-05678-4
5. Nieto C.G., Navarrete I., Habela M.A., Serrano F., Redondo E., (1992), Pathological changes in kidneys of dogs with natural Leishmania infection,Vet.Parasitol.,45:33-47 PMID: 1485420 DOI: 10.1016/0304-4017(92)90025-5
6. Solano-Gallego L., Koutinas A., Miró G., Cardoso L., Pennisi M. G., Ferrer L., Bourdeau P., Oliva G., Baneth G., (2009). Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. Vet parasitol, 165(1-2):1-18, doi: 10.1016/j.vetpar.2009.05.022.
7. Solano-Gallego L., Guadalupe M., Koutinas A., Cardoso L., Pennisi M., Ferrer L., Bourdeau P., Gaetano O. & Baneth G. (2011). LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. Parasites and Vectors 4. DOI: 10.1186/1756-3305-4-86
8. Tryphonas L.,Zawidzka Z.,Bernard M.A.,Jonzen E.A., (1977), Visceral Leishmaniasis in a dog: Clinical, Hematological and Pathological Observations, Can J Comp Med. 1977 Jan;41(1):1–12.
9. \*\*\*https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/health\_professionals/
10. \*\*\*https://www.leishvet.org/wp-content/uploads/2018/04/LeishVet-Guidelines-4Ed.pdf