

**Proiecte de cercetare pentru stimularea constituirii de tinere echipe de cercetare independente - tip TE**

TE\_277\_nr. 116 / 2010

CNCSIS-UEFISCSU / USAMVB TIMISOARA



Titlul proiectului:

**CERCETĂRI PRIVIND EPIDEMIOLOGIA, DIAGNOSTICUL ȘI CONTROLUL UNOR HEMOPARAZITOE LA CÂINI**



**Director proiect:** asist.univ. dr. **Marius Stelian ILIE**

**Echipe de cercetare:** dr. **Kalman IMRE**, drd. **Ionela HOTEA**, drd. **Mirela IMRE**

**VALOAREA PROIECTULUI APROBATA - 750000 LEI**

**Perioada de derulare - 36 luni – 2010 - 2013**

Proiectul de fata propune urmatoarele **obiective specifice:**

Cercetari asupra etiologiei hemoparazitozelor la caini in vestul Romaniei;

Cercetari asupra etiologiei hemoparazitozelor la caini in sud -vestul Romaniei;

Determinarea prevalentei hemoparazitozelor la caini in sud vestul si vestul Romaniei si cartarea speciilor identificate;

Evaluarea patogenitatii hemoparazitilor asupra gazdelor;

Identificarea principalelor elemente de epidemiologie si implicatiile lor in sanatatea animala si publica;

Cercetari de biologie moleculara asupra speciilor de paraziti cu localizare sanguina la caini;

Optimizarea masurilor de profilaxie si control in parazitoze cu localizare sanguina la caini;

Inercarea de a identifica speciile de paraziti cu localizare sanguina la caini in zona de sud vest si vest a Romaniei, determinarea prevalentei, zonarea geografica a acestora, cercetarile de biologie moleculara asupra hemoparazitilor identificati promoveaza cercetarea fundamentala avansata pe plan national, creste vizibilitatea cercetarii romanesti in plan international

Cercetarea are un ridicat caracter interdisciplinar.Prin implicarea in proiect a tinerilor cercetatori se creeaza o sansa suplimentara de obtinere a unei pozitii profesionale stabile in universitatea noastra si se stimulare abilitatilor tinerilor cercetatori de a participa sau conduce echipe si de a administra proiecte de cercetare.

**Proiecte de cercetare pentru stimularea constituirii de tinere echipe de cercetare independente - tip TE**

TE\_277\_nr. 116 / 2010

CNCSIS-UEFISCSU / USAMVB TIMISOARA

**Etapa 1 / 2010**

Deviz cadru etapa 1 / 2010

NR. CRT	DENUMIRE CAPITOL BUGET	VALOARE 2010 (lei)
1.	<b>CHELTUIELI DE PERSONAL**</b> <i>max. 60% din bugetul proiectului</i>	54720
2.	<b>CHELTUIELI INDIRECTE (regie)</b> <i>max. 10% din bugetul proiectului</i>	13327
3	<b>MOBILITATI</b> <i>(se asigura participarea la stagii de documentare-cercetare in tara si in strainatate, participari la manifestari stiintifice nationale si internationale)</i>	15224
4.	<b>CHELTUIELI DE LOGISTICA</b> <i>(infrastructura de cercetare, cheltuieli materiale, diseminare etc)</i>	50000
5.	<b>PRIMA DE INSTALARE</b> <i>max 170.000 lei</i> (doar pentru tinerii cercetatori ce revin in tara	0
	<b>TOTAL</b>	<b>133271</b>

**Obiectiv 1 / 2010**

**CERCETĂRI ASUPRA ETIOLOGIEI HEMOPARAZITOZELOR LA CÂINI ÎN VESTUL ROMÂNIEI**

**Cercetări asupra etiologiei dirofilariozei la câini în vestul României prin tehnici uzuale de examinare, colorare și imunoenzimatică**

Pe parcursul studiului au fost folosite pentru diagnosticul de specie cinci metode diferite (examen direct între lamă și lamelă, metoda Knott modificată, colorarea imunohistochimică, test rapid Speed Diro, Elisa - DiroCHEC), pentru identificarea speciilor de *Dirofilaria*.

La câini luați în studiu au fost identificate microfilarii de *Dirofilaria immitis* și *D. repens*.

Metoda de diagnostic directă, între lamă și lamelă a pus în evidență microfilarii în sângele a opt câini. Testele rapide, specifice pentru *D. immitis*, au fost pozitive pentru patru cazuri, unul nefiind evidențiat ca pozitiv. Metodele Knot modificată și imunohistochimică pun în evidență diferite caractere morfologice și imunohistochimice, dar necesită îndemânare, experiență și personal calificat în această direcție. Metoda ELISA, DiroCHEC a detectat antigenele de *D. immitis* din plasma și sau serurile supuse studiului la 5 pacienți canini, fiind indicată și pentru diagnosticul infestațiilor oculte / ascunse.

În zona de vest a României au fost identificate, în urma studiului, speciile *Dirofilaria immitis* la cinci câini și *D. repens* la 3 câini.

## Proiecte de cercetare pentru stimularea constituirii de tinere echipe de cercetare independente - tip TE

TE\_277\_nr. 116 / 2010

CNCSIS-UEFISCSU / USAMVB TIMISOARA

---

### Investigații etiologice în babesioza canină în zona de vest a țării prin tehnici de colorare

Diagnosticul de babesioză a fost efectuat prin observarea directă la microscopul optic (ob. x 100) a protozoarului în frotiul de sânge colorat Diff-Quick, iar diagnosticul etiologic și categorisirea paraziților s-a făcut pe bază de micromăsurători cu ajutorul microscopului Motic cu extensie video.

Investigațiile etiologice efectuate în patru județe vestice (Arad, Bihor, Caraș-Severin și Timiș) la un număr de 277 de câini au evidențiat, pe bazele caracterelor morfologice efectuate prin micromăsurători, un parazitism cu specii de babesii mari (15 cazuri) și unul cu specii de dimensiuni mici (6 cazuri).

Speciile de babesii mari au avut dimensiuni cuprinse între 2.5-3.5 μm iar cele de dimensiuni mici 1-2 μm. Distribuția babesiiilor de dimensiuni mari (*B. canis*) în cadrul populației canine în cele 4 județe a fost următoarea: 4 în județul Arad, 1 în județul Bihor, 2 în județul Caraș-Severin și 8 în județul Timiș. Distribuția babesiiilor de dimensiuni mici (*B. gibsoni*) în cadrul populației canine în cele 2 județe în care au fost diagnosticate a fost următoarea: un caz în județul Bihor și cinci cazuri în județul Timiș.

Prezența căpușelor pe animal la momentul sau înainte de examinare nu este un factor epidemiologic constant, relația trofică gazda vertebrat – gazda nevertebrat fiind de cele mai multe ori neobservabilă.

Modificarea stării generale este întâlnită la majoritatea câinilor pozitivi la babesii.

Febra a fost prezentă la toate cazurile de infestație cu *B. canis*, *B. gibsoni* putând evolua fără modificarea temperaturii corporale.

Infestația cu babesii la câini în zona de vest a țării (județele: Arad, Bihor, Caraș-Severin și Timiș) nu a fost influențată de sex și rasă.

### Investigații etiologice în babesioza, erlichioza și anaplasmoza canină în zona de vest a țării prin tehnica imunofluorescenței indirecte

Probele au fost prelucrate în vederea identificării unor agenți etiologici hemoparazitari (*B. canis*, *B. gibsoni*, *Erlichia* și *Anaplasma*), prin tehnica imunofluorescenței indirecte, în laboratorul disciplinei de Parazitologie și Boli Parazitare, Timișoara.

Screeningul etiologic, efectuat în cinci județe (Arad, Bihor, Caraș-Severin și Timiș) din vestul României, prin tehnica imunofluorescenței indirecte (kit-ul MegaScreen® FLUOVET®), la un efectiv de 194 de câini asimptomatici, a demonstrat o seropozitivitate pentru: *Erlichia canis* (32 de cazuri), *Babesia canis* (23 de câini), *Anaplasma phagocytophilum* (7 cazuri) și *Babesia gibsoni* (4 cazuri).

Aceste investigații confirmă, indirect, evoluția babesiozei canine determinată de specii mari (*B. canis*) și de specii mici (*B. gibsoni*) în zona de vest a României, lucru confirmat deja în cadrul unui capitol anterior.

**Proiecte de cercetare pentru stimularea constituirii de tinere echipe de cercetare independente - tip TE**

TE\_277\_nr. 116 / 2010

CNCSIS-UEFISCSU / USAMVB TIMISOARA



Project title:

**RESEARCHES REGARDING EPIDEMIOLOGY, DIAGNOSIS AND CONTROL OF SOME HAEMOPARASITOSIS IN DOGS**



**Project director/manager:** asist.univ. dr. **Marius Stelian ILIE**

**Research team:** dr. **Kalman IMRE**, drd. **Ionela HOTEA**, drd. **Mirela IMRE**

**Project value- approved - 750000 LEI**

**Project period - 36 months – 2010 – 2013**

The project has the following **specific objectives**:

- Research on etiology of haemoparasitoses in dogs in Western Romania;
- Research on etiology of haemoparasitoses the dogs in South-Western Romania;
- Determining the prevalence of haemoparasitoses in dogs in South West and West of Romania and mapping of identified species;
- Evaluation of pathogenity of haemoparasites for the hosts;
- Identify the key elements of epidemiology and their implications on animal and public health;
- Molecular biology research on the species of parasites in the blood of dogs;
- Optimizing the preventive and control measurements in blood parasites of dogs;
- Trying to identify the species of parasites in the blood of dogs from the South West and West of Romania, to determine the prevalence, geographic zoning and molecular biology research on haemoparasites identified at the national level to increase the international visibility of Romanian research.

The research has a raised interdisciplinary character. The involvement of young researchers in the project is creating an additional opportunity for achieving a stable professional position in our university and skills to stimulate young researchers to participate or lead teams and manage research projects

**Proiecte de cercetare pentru stimularea constituirii de tinere echipe de cercetare independente - tip TE**

TE\_277\_nr. 116 / 2010

CNCSIS-UEFISCSU / USAMVB TIMISOARA

**Stage 1 / 2010**

Financial Informations / 2010

<b>CRT. NO.</b>	<b>NAME OF BUDGET CHAPTER</b>	<b>VALUE 2010 (lei)</b>
<b>1.</b>	<b>STAFF EXPENSES/COSTS**</b> <i>max. 60% from the project budget</i>	54720
<b>2.</b>	<b>INDIRECT EXPENSES (regie) max. 10% from the project budget</b>	13327
<b>3</b>	<b>MOBILITIES</b> <i>(The attendance at documentation-research stages home and abroad, attendances at scientific national and international events)</i>	15224
<b>4.</b>	<b>LOGISTICS COSTS</b> <i>(research infrastructure, material costs, dissemination etc)</i>	50000
<b>5.</b>	<b>INSTALLATION BONUS</b> <i>max 170.000 lei (only for the young people who come back to their country)</i>	0
	<b>TOTAL</b>	<b>133271</b>

**Obiective 1 / 2010**

**RESEARCHES REGARDING ETIOLOGY OF HEMOPARASITOSEs IN WESTERN ROMANIA**

**Researches regarding etiology of dirofilariosis in dogs in western Romania using usual, staining and immunoenzimatic techniques**

In this study, for *Dirofilaria* specie diagnosis, five different methods (direct examination, modified Knott method, immunohistochemic staining, rapid test Speed Diro, ELISA – DiroCHEC) were used.

In dogs studied, *Dirofilaria immitis* and *D. repens* microfilaria were identified.

Direct identification method showed microfilaria in blood samples from eight dogs. Rapid tests, specific for *D. immitis* showed positivity in four cases, one being showed as negative. Modified Knott method and immunohistochemical method can emphasize different morphologic and imunohistochemical characters, but require specific skills, experience and qualified personal. ELISA DiroCHEC method, found *D. immitis* antigens from plasma or serum of five dogs, being indicated also for diagnosis of occult infections

In western Romania, *Dirofilaria immitis* was found in five dogs and *D. repens* in three dogs.

## **Proiecte de cercetare pentru stimularea constituirii de tinere echipe de cercetare independente - tip TE**

TE\_277\_nr. 116 / 2010

CNCSIS-UEFISCSU / USAMVB TIMISOARA

---

### **Etiologic investigations in canine babesiosis in western Romania using staining techniques**

Babesiosis was diagnosed following observation in optical microscope (ob. X 100) in Diff-Quik stained blood smears of protozoas. Etiologic diagnosis was established using measurements with video extension of Motic microscope.

Investigations were carried out in four western counties (Arad, Bihor, Caraş-Severin and Timiş) on 277 dogs. Based on morphological characters a parasitism with large babesia (15 cases) and small babesia (6 cases) was found.

Large *Babesia* species measured between 2.5-3.5 µm and small *Babesia* species between 1-2 µm. The distribution of large babesia (*B. canis*) in dogs, by counties was the following: 4 in Arad County, 1 in Bihor County, 2 in Caraş-Severin County and 8 in Timiş County. The distribution of small babesia (*B. gibsoni*) by counties was: one in Bihor County and five in Timiş County.

The presence of ticks on the positive dogs before or in the examination moment was not a constant epidemiological factor, trofic relationship between vertebrate host and non-vertebrate host being, most of the times, unobserved.

General status modifications were found in the majority of the babesia positive dogs. The fever was present in all cases infected with *B. canis*, but some of the cases infected with *B. gibsoni* didn't showed modifications in body temperature.

The infestation with *Babesia* spp., in dogs, in western Romania (Arad, Bihor, Caraş-Severin and Timiş Counties) was not influenced by breed and sex

### **Etiological investigations in canine babesiosis, erlichiosis and anaplasmosis in western Romania using indirect immunofluorescence**

The samples were processed for identification of haemoparasites (*B. canis*, *B. gibsoni*, *Erlichia* și *Anaplasma*) using indirect immunofluorescence technique in the laboratory of Parasitology and Parasitological Diseases Timișoara.

The etiologic screening was carried out in five Counties (Arad, Bihor, Caraş-Severin and Timiş) from western Romania using indirect immunofluorescence (MegaScreen® FLUOVET® kit), on 194 samples from asymptomatic dogs. Seropositivity was found for: *Erlichia canis* (32 cases), *Babesia canis* (23 cases), *Anaplasma phagocytophilum* (7 cases) and *Babesia gibsoni* (4 cases).

These investigations indirectly confirm the evolution of canine babesiosis produced by large species (*B. canis*) and small species (*B. gibsoni*) in western Romania, fact confirmed in the previous chapter.