

# **BABESIA VENATORUM – UN NOU AGENT DE PARAZITOTZE SANGUINE LA ANIMALE ȘI OAMENI IDENTIFICAT ÎN REPUBLICA MOLDOVA**

Doctorand **Oxana CRAVCENCO**

Doctor în științe biologice **Alexandru MOVILĂ**

Academician **Ion TODERAȘ**

Institutul de Zoologie al Academiei de Științe a Moldovei

## **BABESIA VENATORUM – A NEW AGENT OF BLOOD PARASITE DISEASES OF ANIMALS AND HUMANS IDENTIFIED IN THE REPUBLIC OF MOLDOVA**

**Summary.** The paper presents the results of study of Babesia infestation of ticks *Ixodes ricinus* collected in stationary areas of the Lower Dniester region. It was considered their role as vectors of transmissible infections and the potential danger of forming urban natural foci of tick-borne infections in the Republic of Moldova.

**Keywords:** ticks, endemic and epidemiological importance, tick-borne infections, natural foci, babesiosis.

**Rezumat.** În lucrare sunt prezentate rezultatele cercetărilor infestării cu Babesia a căpușelor *Ixodes ricinus*, colectate în zone staționare din regiunea Nistrului de Jos. A fost studiat rolul acestora ca vectori ai infecțiilor transmisibile, precum și pericolul potențial de formare a focarelor naturale urbane de infecții suportate de căpușe în Republica Moldova.

**Cuvinte-cheie:** căpușe, importanță endemică și epidemiologică, infecții generate de căpușe, focare naturale, babesioză.

## INTRODUCERE

Importanța medicală și veterinară a ixodidelor este enormă din cauza capacității lor de a transmite prin mușcăături multe tipuri de agenți patogeni ai infecțiilor transmisibile, precum și de a-i păstra și acumula în intervalele dintre feed-uri. De la căpușe colectate în sălbăticie au fost separate mai mult de 100 de virusuri, peste 30 de specii de Rickettsia, câteva specii de bacterii, protozoare și fillyarii, dintre care multe sunt patogene pentru oameni și animale [3,6].

În ultimul timp, se constată o creștere a bolilor transmise de căpușe ixodide, această categorie de boli fiind pe unul din primele locuri printre infecțiile transmisibile.

Infecțiile provocate de căpușe constituie, din ce în ce mai frecvent, cauza bolilor și la locuitorii orașelor: prin coridoarele verzi acarienii pătrund în parcurile urbane, unde există suficiente vietăți ce le asigură hrana (mamifere mici și păsări), dar și surse de infecții, care sunt atât acarienii înșiși, cât și gazdele lor vertebrate (păsări, rozătoare, animale de casă fără stăpân) [10]. Literatura de specialitate conține date privind posibilitatea de transmitere simultană la om a agenților patogeni ai mai multor infecții. În cazul unei astfel de infecții mixte, tacticile terapeutice de tratament me-

dicamentos al pacientului trebuie supuse unei ajustări majore, deoarece este cunoscut faptul că procesul de infecție mixtă diferă în mod semnificativ de cel de monoinfecție [2,5].

În ultimele decenii, tot mai importante ca noi boli umane devin babesiozele, fapt care poate fi cauzat de nivelul insuficient de diagnosticare. Babesioza la animale este studiată mai amplu decât babesioza la oameni. Boala este răspândită la bovine, cabaline, mai rar este diagnosticată la câini, capre, oi și porci. Date privind babesioza umană în Rusia, Ucraina și Moldova sunt foarte puține. În opinia multor cercetători, doar *Babesia microti*, *B. divergens* și *B. venatorum* sunt cauza babesiozelor umane [4, 12].

Babesioza (piroplasmaza) este o boală parazită asemănătoare cu malaria, care afectează sângele animalelor și cel uman, cauzată de protozoare intraeritrocitare din genul *Babesia* și care se caracterizează prin intoxicare, febră, dezvoltarea anemiei și adesea prin evoluție progresivă severă [2, 12]. În multe țări, babesioza nu este diagnosticată oficial, ca urmare a gradului de conștientizare slabă a medicilor (în America, conștientizarea medicilor despre această boală este destul de mare și s-au înregistrat progrese semnificative în tratament), unii oameni de știință consideră că boala este larg răspândită în rândul populației

[12]. Această boală are un caracter sezonier pronunțat (aprilie-octombrie), situația dată fiind cauzată de activitatea sezonieră a căpușelor.

Infectarea oamenilor se produce prin mușcătură de căpușă; există ipoteze cu privire la infectarea transmisivă a omului prin intermediul insectelor zburătoare – țânțari, musculițe, muște, muște de cai, precum și al puricilor [12]. Ca purtători de babesioză la animalele domestice, cele mai cunoscute sunt căpușele din genurile *Dermacentor*, *Rhipicephalus* și *Hyalomma*, iar la om – căpușele din genul *Ixodes*, în primul rând, *Ixodes ricinus* și *Ixodes persulcatus*. Rezervoare de *Babesia* spp. servesc diverse mamifere mari (bovine, căprioare) și mici.

În 2012, N. Sitnikova și colab. (2012) [11] au subliniat rolul speciilor de căpușe *Dermacentor marginatus* ca vectori de patogeni în Republica Moldova, remarcând nivelul ridicat de contaminare cu microorganisme din specia *Babesia microti* (11,76 % în Chișinău, 32,25 % în rezervații naturale și 8,33 % în mediul rural), precum și specia *Babesia odocoilei* diagnosticată pentru prima dată pe teritoriul Moldovei în căpușa din specia *Dermacentor marginatus* (Plaiul Fagului) în care procentul de infestare a constituit 3,22%.

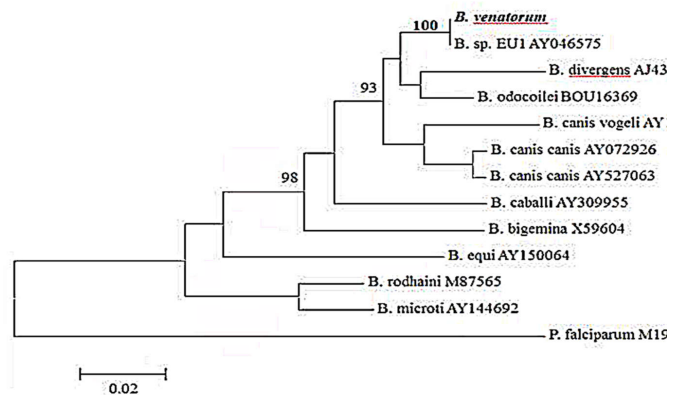
Scopul acestui studiu a fost de a argumenta prezența agenților patogeni ai Babesioza în căpușe *Ixodes ricinus* pe teritoriul Republicii Moldova și a studia rolul actual al căpușelor *Ixodes ricinus* ca vectori de agenți patogeni în Republica Moldova.

## MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

Materialul pentru acest studiu l-au constituit căpușele ixode, a căror colectare a avut loc în regiunea Nistrului de Jos. Studiile staționare au fost efectuate în Grădina Botanică a orașului Tiraspol, în zona de parc a orașului Bender – parcul „Prietenia Popoarelor” și în zona împădurită a satului Gâsca. Teritoriile de cercetare, cu excepția Grădinii Botanice din Tiraspol, sunt utilizate pentru pășunatul bovinelor și vitelor mici [7]. Colectarea de căpușe flămânde s-a efectuat prin metoda obișnuită, de pe vegetația cu iarbă și arbust, de pe suprafața solului – pe pavilion (100 m<sup>2</sup>) [8,13]. Identificarea speciilor de căpușe ixode s-a efectuat la Centrul pentru studiul invaziilor biologice al Institutului de Zoologie al AȘM, utilizându-se tabelele N.A. Philippova (1977, 1997) [14,15]. Acarienii au fost plasați în tuburi etichetate în alcool 70% (pentru investigarea prin reacția în lanț a polimerazei (RLP)). Au fost testate 161 de căpușe (106 de femele, 55 de nimfe).

Determinarea agenților patogeni în corpul căpușei a fost realizată folosind metoda RLP, o metodă de diag-

nostic cel mai mult practică [9]. Analizele biologice moleculare pentru prezența agenților ADN patogeni ai zoonozelor de căpușe au fost realizate în Centrul pentru studiul invaziilor biologice al Institutului de Zoologie al AȘM și în Forsyth Institute, Cambridge, Statele Unite ale Americii (cu concursul doctorului în științe biologice A. Movilă). Extracția ADN-ului s-a efectuat cu ajutorul setului reactiv comercial «Genomic DNA Purification kit». Acesta a fost utilizat pentru extracția ADN-ului din întreg corpul căpușei. Pentru a identifica diversitatea speciilor de *Babesia* spp. în căpușe ixode, porțiunea de genă 18S pARN cu lungimea de 560 p.b. (poziția fragmentului amplificat 488-912 p.b.) a fost amplificată cu ajutorul unei perechi de oligonucleotide specifice BJ1 (5'-GTC TTG TAA TTG GAA TGA TGG-3') și BN2 (5'-TAG TTT ATG GTT AGG ACT ACG- 3') (figura 1) [1].



**Figura 1.** Arborele filogenetic al 18S pARN din genul *Babesia* de căpușe *Ixodes ricinus*, Republica Moldova

Toate produsele pozitive RLP au fost purificate folosind setul de reactivi GeneJET™ PCR Purification Kit (Fermentas Inc.) și secvențiate pentru a determina specia și sușa de microorganisme cu un secvențiator automat Applied Biosystem.

Secvențele de ADN citite au fost comparate cu secvențele din baza de date a secvențelor de nucleotide GenBank folosind opțiunea de căutare BLAST a Centrului National pentru Informații Biotehnologice ([www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST)).

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

Ca rezultat al cercetării căpușelor *Ixodes ricinus* pe teritoriile din zonele de staționare pentru a stabili infestarea lor cu *Babesia*, au fost studiate 161 de exemplare de căpușe ixode (106 de femele și 55 de nimfe). Infectarea medie a ixodidelor cu *Babesia* a fost de 18,6% (30 ind.), infectarea cu *Babesia venatorum* a constituit 6,8 %.

Tabelul 1

**Efectivul numeric al căpușelor colectate pe habitate staționare și cuantumul (%)  
căpușelor infectate cu Babesia**

Zona de studiu (Puncte staționare)	Numărul de căpușe studiate			Numărul de purtători			% de infestare			Procent mediu de infestare
	Anul cercetării	2012	2013	2014	2012	2013	2014	2012	2013	
Grădina Botanică, Tiraspol	30	28	21	5	5	4	17	18	19	18,0
Zona împădurită, s. Gâsca	9	13	13	0	2	4	0	15,4	31	15,4
Parcul „Prietenia popoarelor”, or. Bender	5	19	23	1	4	5	20	21,1	22	21
<b>Total:</b>	44	60	57	6	11	13	12,3	18,2	24	18,1

În 2012, s-au studiat 44 de acarieni dintre care au fost infectați cu Babesia 6 (14%); în 2013 s-au studiat 60 de acarieni, dintre care sunt infectați 11 (18,3%); în 2014 – 57 (infectate 13- 23%).

În analiza căpușelor infectate cu Babesia, colectate din diferite puncte de staționare, am constatat că procentul de contaminare variază de la 17% în Grădina Botanică, Tiraspol, până la 31% în pădurea din s. Gâsca (tabelul 1).

Procentul mediu de căpușe infectate cu Babesia pentru toate cele trei puncte staționare, în trei ani de observație, a fost de 18,1%. Sub formă de monoinfecție, Babesia spp. a apărut în 53% (16 ex.) de cazuri, iar în 13,3% (4 ex. ) – în combinație cu alte microorganisme patogene.

ADN-ul *Babesia venatorum* a fost găsit la femele colectate în Grădina Botanică din Tiraspol (4 exemplare – 13,3%), în pădurea s. Gâsca (6,6% – 2 ex.) și în Parcul „Prietenia Popoarelor” (1 ex. – 3,3%); infestarea nimfă în aceste biotopuri a constituit respectiv: 1 ex. – 3,3%; 0; 3 ex. – 10 % (tabelul 2).

Tabelul 2

**Gradul de infestare a nimfelor și femelelor  
*Ixodes ricinus* cu *Babesia venatorum* în punctele  
staționare din regiunea Nistrului de Jos**

Punctele de colectare	Gradul de infestare în diferite stadii de dezvoltare ale căpușelor, %	
	Nimfe	Femele
Zona împădurită, s. Gâsca	(0 ex.)	6,6 % (2 ex.)
Parcul „Prietenia popoarelor”, or. Bender	10 % (3 ex.)	3,3 % (1 ex.)
Grădina Botanică, or. Tiraspol	3,3 % (1 ex.)	13,3 % (4 ex.)
<b>Total:</b>	13,3 % (4 ex.)	23,2 % (7 ex.)

În 2011, A. Movilă și colab. au descoperit pentru

prima dată *B. venatorum* în căpușe colectate de la păsări (Paseriforme), în partea de nord-vest a Rusiei [4]. *B. venatorum* a fost, de asemenea, detectată în căpușe prelevate de la păsările migratoare din Norvegia, venite din Europa de Est, ele reprezentând o componentă importantă în mecanismul de răspândire a agenților patogeni purtați de căpușe. *Babesia venatorum*, descoperită pentru prima dată la căpușe colectate de la Paseriforme în Rusia, indicau faptul că păsările migratoare sunt un rezervor pentru *Babesia* spp., rolul păsărilor în epidemiologia acestui agent patogen fiind considerabil.

### CONCLUZII

Pentru prima dată pe teritoriul Republicii Moldova, în căpușele *Ixodes ricinus* a fost identificat un nou agent *Babesia venatorum*, agentul cauzal al babesioza – parazitoză sangvină la om și animale.

A fost demonstrat că *I. ricinus* participă la circulația Babesia în mediul extern, fiind purtătorul principal al babesioza pe teritoriul Republicii Moldova.

Procentul de infestare *Babesia* spp. variază de la 17% – în Grădina Botanică, Tiraspol, până la 31% – în zona împădurită din s. Gâsca, gradul de infestare cu *Babesia venatorum* a constituit 6,8%.

Pentru a preveni dezvoltarea unei situații epidemiologice-epizootologice, este nevoie de efectuarea la timp a testelor de diagnosticare a infestării corpului acarienilor cu agenți infecțioși de zoonotropoză.

Având în vedere răspândirea largă de căpușe *Ixodes ricinus* în țară, a fost arătat rolul important al acestora în menținerea focarelor de infecții parazitare cu transmitere prin căpușe.

## BIBLIOGRAFIE

1. Casati S., Sager H., Gern L., Piffaretti J. Presence of potentially pathogenic *Babesia* sp. for human in *Ixodes ricinus* in Switzerland. *Annals of agricultural and environmental medicine*. 2006. Vol. 13. No 1, p. 65.
2. Kavanaugh M.J., Decker C.F. Babesiosis. *Dis Mon.* 2012. 58(6), p. 355-360.
3. Movila A., Dubinina H.V., Sitnicova N., Bespyatova L., Uspenskaia I., Efremova G., Toderas I., Alekseev A.N. Comparison of tick-borne microorganism communities in *Ixodes* spp. of the *Ixodes ricinus* species complex at distinct geographical regions. *Experimental and Applied Acarology*. 2014. Vol. 63, No1, p. 65-76.
4. Movila A., Reye Anna L., Dubinina H.V., Tolstenkov O.O., Toderas I., Hübschen Judith M., Muller Claude P., Alekseev A.N. Detection of *Babesia* Sp. EU1 and Members of Spotted Fever Group Rickettsiae in Ticks Collected from Migratory Birds at Curonian Spit, North-Western Russia. *PubMed*. 2011, p. 89-91.
5. Алексеев А.Н., Дубинина Е.В. Проблема адаптации организмов к среде обитания. Организм переносчиков болезней – среда обитания множества патогенных микроорганизмов как пример функционирования сложной системы в меняющихся условиях среды. *ЗИН РАН, Санкт-Петербург*. 2006. Т. 5, с. 53-56.
6. Балашов Ю. С. Место иксодовых клещей (*Ixodidae*) в лесных экосистемах. *Паразитология*. 1996. Т. 30. № 3, с. 193-203.
7. Кравченко О.В. Антропогенная трансформация и ее роль в формировании урбанистических природных очагов иксодовых клещей (*Acarina: Ixodidae*) в районах

нижнего Днестра. *Бюллетень АНМ*. 2015. № 3, с. 110-118.

8. Методические указания «Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих переносчиков возбудителей природно-очаговых инфекций». Москва: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2002, с. 7-23.

9. Мовилэ А.А. Генетическое разнообразие иксодовых клещей *Ixodes ricinus* и трансмиссивных микроорганизмов в очагах Республики Молдова. Кишинев. Автореф. диссерт. доктора биол. наук, 2008, с. 3-22.

10. Романенко В.Н. Мониторинг видового состава и численности иксодовых клещей (*Parasitiformes, Ixodidae*) в антропогенных биотопах. «Биология». 2009, с. 376-379.

11. Ситникова Н., Морозов А., Кравченко О. Заражённость трансмиссивными патогенами клещей р. *Dermacentor* на территории Республики Молдова. *Международная конференция молодых ученых, X-издание*. 2012, с. 55.

12. Терлецкий А.В., Ахмерова Л.Г. Бабезиоз (Пироплазмоз) – кровепаразитарное заболевание животных и человека. *Гематол. и трансфузиол.*, 2005, т. 50, № 3, с. 36.

13. Фасулати К.К. Полевое изучение наземных беспозвоночных: учебн. пособ. М.: Высшая школа, 1971, с. 424.

14. Филиппова Н.А. Иксодовые клещи подсемейства *Amblyommina*. *Паукообразные*. 1997. Том IV, вып. 5, с. 4-30.

15. Филиппова Н.А. Иксодовые клещи подсем. *Ixodinae*. *Фауна СССР. Паукообразные*. 1977. Том IV, вып. 4, с. 396.



Mihai Jomir. *Fereastra mănăstirii I*, u.p., 1991