
TEZA DE DOCTORAT

Cercetări privind căpușele colectate de pe specii de păsări sălbatică și rolul acestora în transmiterea unor agenți patogeni

(REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT)

Doctorand **Ioan-Daniel Mărcuțan**

Conducător de doctorat **Prof. Dr. Vasile Cozma**

**Membru titular al Academiei de Științe Agricole și Silvicultură
București**



Păsările sîlbatică pot afecta riscul de boli zoonotice la oameni, faunei sîlbatică și animalelor domestice, prin mobilitate, distribuție și abundența vectorilor și agenților patogeni asociați. Cel mai notabil, migrația aviară permite transportul rapid transcontinental de agenți patogeni și vectori care pot stabili noi focare de boală în medii receptive. Mobilitatea aviară și migrația sunt remarcabile fenomene biologice, dar ele sunt de asemenea factori cruciali cu potențial epizootic. Chiar și speciile de păsări sedentare se pot deplasa uneori 50-100 km, și pot transporta agenți patogeni viabili în timpul mișcărilor lor neregulate. În plus păsări din diferite specii se opresc pe traseul migrației în diferite locuri de odihnă, caz în care transmiterea agenților patogeni pe orizontală între indivizi interspecific este frecventă. Păsările migratoare sunt implicate în transportul agenților patogeni microbieni prin trei mecanisme: ca purtători biologici, ca purtători mecanici și gazde și transportatori de ectoparaziți infectați. Păsările sunt gazde pentru mai mulți ectoparaziți care uneori pot servi ca vectori ai bolilor. Dintre acestea cele mai importante sunt stadiile imature ale căpușelor Ixodidae și Argasidae, care pot fi transportate de gazdele lor de la un sit la altul chiar și între continente (OLSÉN, 1995).

Căpușele sunt paraziți externi ai reptilelor, păsărilor și mamiferelor cu modalitate de hrănire obligatoriu hematofagă și discontinuă și cu o importanță deosebită în domeniul medical și veterinar. Datele despre căpușe sunt impresionante, aproximativ 907 specii sunt denumite în prezent după cum urmează: Argasidae (186), Ixodidae (720) și Nuttalliellidae (1). Căpușele se hrănesc pe mamifere (inclusiv oameni), păsări și reptile (FURMAN, 1984). Distribuția geografică a acestora variază din zonele sub-arcice până la Ecuator, zone de ertice și pături tropicale. Căpușele sunt capabile să transmită o mare varietate de microorganisme patogene, protozoare, rickettsii, spirochete și virusuri, ocupând primul loc în grupul vectorilor artropode și sunt printre cei mai importanți vectori în transmiterea unor boli la animale de rentă, oameni și animale de companie (JONGEJAN, 2004). Mai mult decât atât, căpușele pot cauza condiții toxice severe, cum ar fi paralizie și toxicoză, iritații, alergii, anemie și dermatite. Căpușele Ixodidae sunt cunoscute ca vectori pentru multe boli periculoase la oameni și animale domestice. Acest fapt a fost întotdeauna în atenția biologilor. Aproximativ 60 de specii din ordinul Ixodida, stadiul de adult se hrănesc pe păsări și aproximativ același număr pe reptile. Formarea relațiilor gazd-parazit între căpușe și păsări este sinonimă cu zona de cuibărit, habitatul de căutare al hranei, fiind independent de încadrarea lor taxonomică. Asocierea căpușelor cu păsările este aparent mai veche decât asocierea cu reptilele. Aceasta este confirmată printr-o variabilitate morfologică semnificativă a căpușelor de pe păsări, formând mai multe subgenuri în genul Ixodes. Cel mai mare număr de căpușe (25 specii) se găsesc pe păsările care au tipul de hrănire la sol. Deși aceste specii fac parte

din subgenuri diferite, majoritatea gazdelor apar în ordinului Passeriformes, Galliformes și Cuculiformes. Este bine cunoscut faptul că România se află pe traseul de migrație al păsărilor din Europa de Est, precum Marea Baltică, Belarus, Ucraina, România, Bulgaria în Turcia, peste Bosfor și peste Orientul Mijlociu, pentru a ajunge în Africa.

Păsările la rândul lor pot fi infectate cu agenți patogeni transmiși de către și de exemplu *Anaplasma phagocytophilum* (DE LA FUENTE, 2005), *Babesia* spp. (FRANKE, 2010), *Rickettsia rickettsia* (LUNDGREN, 1966), *Borrelia* spp., în special *B. garinii*, *B. valaisiana*, *B. turdi* (GYLFE, 2000; RICHTER, 2000) și *B. burgdorferi* s.s. (ANDERSON, 1984; 1986), dar probabil nu și *B. afzelii* (KURTENBACH, 2002) deși această noțiune a fost contestată de mai mulți cercetători. Există multe studii care prezintă date epidemiologice referitoare la rolul păsărilor în distribuția căpușelor și agenților patogeni asociați în Europa. În România există puține informații legate de rolul păsărilor în dispersarea vectorilor căpușe și a bolilor produse de acestea. În acest context lucrarea de față a avut următoarele obiective:

- Evaluarea diversității speciilor și dinamica sezonieră a căpușelor ce parazitează păsările migratoare din Rezervația Biosferei Delta Dunării, un refugiu important pentru păsările care cîntăresc între continente.
- Structura populației de căpușe colectate de pe păsări și site decedate în zona Muntelui Puciosu.
- Investigarea spectrului de gazde al căpușelor colectate de pe păsări sibatice din România și asocierile dintre speciile de căpușe și gazdele lor cu scopul de a furniza date referitoare privind intersectarea acestora cu azele umane.
- Evaluarea prevalenței infecției cu *Borrelia* spp., *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia* spp. și *Rickettsia* spp. a căpușelor și esuturilor colectate de la păsări sibatice de pe teritoriul României.
- Evaluarea rolului corvidelor în ecologia unor boli transmise de căpușe. Este bine cunoscut faptul că speciile de corvidae nu sunt migratoare și preferă ca habitat azele umane, în special parcurile.

Lucrarea redactată este structurată în două părți, o primă parte intitulată „Stadiul actual al cunoașterii” și partea a doua denumită „Contribuția personală”.

Prima parte reprezintă o sinteză a literaturii de specialitate referitoare la filogenia căpușelor Ixodidae, ecologia și biologia acestora, rolul vectorial în relație cu păsările migratoare și câteva date legate de boli vectoriale transmise de căpușe și colectate de pe păsări, fiind structurată în patru capitole. Primul capitol este o trecere în revistă a datelor despre

progresele în în elegerea filogeniei și evoluției c pu elor tari, numărul de specii și înlocuirile care au loc în taxonomia c pu elor Ixodidae. Cel de-al doilea capitol descrie morfologia, biologia și ecologia c pu elor Ixodidae, precum și accentul pe competența de vector și gazd pentru agenții patogeni transmiși de acestea. Cel de-al treilea capitol descrie rolul de vector al c pu elor în relația cu ps rile migratoare. Este realizată o sinteză a speciilor de c pu e din ordinul Ixodida care se hrănesc pe ps ri la nivel mondial, precum și date despre rutele de migrație, habitate preferate de ps ri în timpul migrației. Tot în acest capitol sunt prezentate date din care rezultă rolul ps rilor de a importa c pu e și barierele care apar în stabilirea unei noi specii de c pu e într-un areal nou. Ultimul capitol al primei părți constă în descrierea principalelor boli vectoriale care au legătură cu ps rile sibatice, cercetate în partea a doua a tezei. Sunt prezentate informații succinte despre istoric, vectori, rolul ps rilor și diagnostic în borelioză, anaplasmoză, babesioză și rickettsioză.

Partea a doua a tezei, cea cu contribuția personală este structurată în cinci capitole fiecare din ele după o formă stabilită. În încheiere sunt prezentate concluziile generale, recomandări și prezentarea literaturii citate. Lista bibliografică cuprinde 412 titluri.

Capitolul 6 a avut ca obiective evaluarea diversității speciilor și dinamica sezonieră a c pu elor ce parazitează ps rile migratoare din Rezervația Biosferei Delta Dunării. Ps rile sunt printre cei mai mari migranți, iar numărul și biomasa de ps ri migratoare care circulă între continente sunt cele mai mari din lumea animală (NEWTON, 2008). Mai mult decât atât, această migrație se întâmplă de două ori în fiecare an, astfel ps rile posedă un potențial extraordinar pentru diseminarea ectoparaziților atașați (de obicei artropode), sau patogeni transportați de aceștia (HILDEBRANDT, 2010; HASLE, 2010). Ps ri sibatice sunt gazde pentru mai multe specii de c pu e, contribuind la **menținerea populațiilor** locale în zonele geografice delimitate (NORTE, 2012). Cu toate acestea, ps rile migratoare joacă un rol important în calitate de distribuitori de c pu e în cadrul și între continente (HOOGSTRAL, 1961). Complexul extins de zone umede din Delta Dunării oferă un important loc de escală la nivel internațional, pentru milioane de ps ri care circulă anual din nordul Eurasiei și Asia (NEWTON, 2008).

Studiul s-a desfășurat în timpul a patru sezoane de migrație: 2 în primăvară (aprilie) și 2 în toamnă (octombrie) în anii 2011 și 2012. Au fost capturate un total de 1.435 de ps ri din 49 specii din ordinul Passeriformes și 3 care nu apar în ordinul Passeriformes. Cele mai multe ps ri au fost capturate în timpul toamnei (n=1168; 81.39%), cu puține în mai multe ps ri migratoare capturate în acest sezon (53% vs 67%). C pu ele au fost găsite pe 95 de ps ri aparținând la 11 specii. Un total de 400 de c pu e au fost colectate și identificate, rezultând următoarea structură

stadial : larve (n=191; 47.75%), nimfe (n=201; 50.25%) și adulți de sex feminin (n=8; 2%). Nu a fost înregistrat nici un adult de sex masculin. Căpușele identificate apar în la 4 specii (*I. ricinus*, *I. arboricola*, *I. redikorzevi* și *Haemaphysalis punctata*). *I. ricinus* a fost cea mai frecventă căpușă (369 căpușe, 92.25% din totalul căpușelor colectate), cu un total de 181 larve, 180 nimfe și 8 femele, parazitând 79 de persoane din 10 specii. Semnificativ a fost faptul că persoanele migratoare au găzduit mai multe căpușe decât persoanele rezidente ($\chi^2=22.70$, $df=1$, $n=22$, $p<0.01$), cu o intensitate mai mare în toate sezonalele migrației (3.6 persoane migratoare vs. 1.75 specii rezidente).

Studiul de faclă indică faptul că persoanele migratoare din Delta Dunării, sunt gazde pentru un număr mare de specii de căpușe cu potențial vectorial. Informațiile furnizate arată că specia *I. ricinus* este cel mai frecvent întâlnit pe persoane și pot constitui o bază pentru înțelegerea ecologiei căpușelor din acest zonă. Pe lângă această concluzie a datelor obținute, intensitatea mai mare a parazitismului în toate sezonalele pentru persoanele migratoare indică faptul că ele întrețin comunitatea căpușelor din zonă și pot duce la creșterea infestației cu căpușe la om și animale domestice, crescând probabilitatea transmiterii bolilor vectoriale.

În **Capitolul 7** scopul a fost de a evalua prevalența infestației cu căpușe la persoanele găzduite decedate în zona Muntelui Puciosu. O altă locație luat în studiu a fost județul Covasna, mai exact zona Muntelui Puciosu (Puturosu), altitudine 1143 m, este parte a masivului Ciomad-Puturosu. Zonele luate în studiu sunt micile peșteri sau foste mine de sulf precum: Grota Timsós (10 m lungime), Grota Sulfuroasă (14 m), Grota Uciga (11 m), sau Cimitirul Persoanelor. Majoritatea acestor groturi conțin emanații de gaze care conțin dioxid de sulf, care ajunse la suprafață depun pe pereții grotului un strat de sulf. Emanațiile din zona Balványos nu sunt mofete tipice deoarece mai au în compoziție pe lângă monoxid de carbon, dioxid de sulf și hidrogen sulfurat (MARCU, 1986).

Studiul s-a realizat în două sezoane consecutive: în primăvara anului 2012, respectiv 2013, au fost colectate și trimise la Disciplina de Parazitologie și Boli Parazitare a Facultății de Medicină Veterinară din Cluj-Napoca, 37 de cadavre de persoane. Fiecare cadavru de persoană a fost ambalat individual și etichetat corespunzător. Cadavrele au fost păstrate la 4°C până în momentul examinării. Fiecare persoană a fost identificată și examinat în vederea identificării unor eventuale infestații cu căpușe. În cazul persoanelor parazitare, au fost recoltate toate căpușele, independent de specie și/sau stadiul de dezvoltare.

Din cele 37 de cadavre de persoane examinate, 33 au fost parazitare cu căpușe din diferite specii. Majoritatea cadavrelor au fost infestate cu specia *I. ricinus*, care de altfel a fost și specia cea mai bine reprezentată numeric (n=91, 95.78% din totalul căpușelor colectate) cu un total de 44 larve, 41 nimfe și 6 femele parazitând 25 de persoane care apar în la 8 specii. Cele 32 de cadavre

parazitare apar în la 8 specii de păsări, toate din ordinul Passeriformes. Au fost identificate un număr de 95 de culeșuri care apar în următoarele specii: *I. ricinus*, *I. arboricola* și *Haemaphysalis punctata*.

Studiul efectuat arată faptul că populația de culeșuri parazite pe păsările migratoare din zona montană nu diferă de populația parazitată pe păsările din Delta Dunării. Specia de culeșuri cel mai des identificată a fost *I. ricinus*. Speciile de păsări cel mai des parazitare cu culeșuri au fost măcăleandrul, *Erithacus rubecula* și mierla, *Turdus merula*, păsări care interacționează mult cu activitățile umane, crescând incidența infestației cu culeșuri implicite a bolilor transmise de acestea.

Scopul **Capitolului 8** a fost acela de a investiga spectrul de gazde al culeșurilor colectate de pe păsări libatice din România și asocierile dintre speciile de culeșuri și gazdele lor cu scopul de a furniza date referitoare privind intersectarea acestora cu activitățile umane. Cercetările realizate de noi au avut ca scop punerea la dispoziție a unor date care să ajute în alegerea apariției unor focare noi de boală produse prin intermediul păsărilor și de prevenire pentru astfel de situații. Miliarde de păsări circulă între continente de două ori pe an în doar câteva săptămâni (BERTHOLD, 1993). În timpul acestor migrații anuale, păsările au potențial de a dispersa agenți patogeni, care pot fi periculoși pentru sănătatea umană și animală (REED, 2003; HUBALEK, 2004). Datele despre migrația lor ar putea fi folosite pentru a îmbunătăți sistemele de supraveghere a bolilor sau pentru a adopta măsuri de prevenire. Cu toate acestea, poduri solide între ecologie, medicină veterinară și medicină umană încă lipsesc. Majoritatea studiilor asupra bolilor transmise de culeșuri colectate de la păsări s-au concentrat pe rolul păsărilor migratoare în diseminarea agenților patogeni transmiși de culeșuri, pe distanțe lungi și prin urmare au fost examinate în timpul migrației păsărilor (OLSEN, 1995; COMSTEDT, 2006; OGDEN, 2008; DUBSKA, 2009).

În România există puține date despre speciile de păsări gazdă pentru culeșuri. Singurele referiri la culeșuri parazite pe păsări sunt realizate de Feider (1965), Mironescu (1966), Chișimăia (2006), Mihalca (2012). Mai mult decât atât informațiile legate de asocierile cu gazda sunt realizate exhaustiv. În perioada 2004-2014, un număr de 2700 de păsări care apar în la 125 de specii au fost examinate. Un număr de 1.065 culeșuri au fost colectate, care apar în la 9 specii: *I. ricinus*, *I. arboricola*, *I. redikorzevi*, *I. lividus*, *Haemaphysalis punctata*, *Haemaphysalis concinna*, *Haemaphysalis parva*, *Hyalomma marginatum* și *Rhipicephalus sanguineus*. Structura stadială a populației de culeșuri este următoarea: larve ($n = 429$, 40.28%), nimfe ($n = 599$, 56.24%), femele ($n = 33$, 3.1%) și masculi ($n = 4$, 0.37%) care au fost recoltați de la păsări din familia Corvidae, fiind prima semnalare de colectare a masculilor de pe păsări din lume. Un total de 243 de păsări au fost parazitare și apar în la 37 de specii.

În urma studiului urmat de noi lucrarea de fa ă aduce 36 de noi asocieri între specii de gazd și c pu e: 18 pentru *I. ricinus*, 4 pentru *I. arboricola*, 1 pentru *I. redikorzevi*, 1 pentru *I. lividus*, 5 pentru *Haemaphysalis punctata*, 2 pentru *Haemaphysalis concinna*, 2 pentru *Haemaphysalis parva* și 3 pentru *Hyalomma marginatum*. P s rile care sunt cel mai des parazitare cu c pu e apar în urm toarelor 10 specii: *Corvus frugilegus*, *Corvus monedula*, *Erithacus rubecula*, *Parus major*, *Pica pica*, *Riparia riparia*, *Sturnus vulgaris*, *Turdus merula*, *Turdus philomelos* și *Turdus pilaris*, 9 dintre acestea fiind speciile cele mai urbanizate.

Capitolul 9 a avut ca și scop evaluarea prevalen ei infec iei cu *Borrelia* spp., *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia* spp. și *Rickettsia* spp. a c pu elor și esuturilor colectate de la p s ri s lbatice de pe teritoriul României.

Pe lâng boala Lyme, cele mai frecvente boli transmise de vectori artropode în emisfera nordic și temperat , infec ii transmise de c pu e cum ar fi anaplasmoza, rickettsioza și babesioza, câ tig importan crescut în rândul bolilor la oameni și animale din Europa (STRLE, 2004; PAROLA, 2005; HUNFELD, 2008). Studiul de fa este o prim încercare de a ob ine informa ii cu privire la rolul anumitor specii de p s ri în dispersarea și men inerea celor patru agen i patogeni în România. Borelioza Lyme este o boal multisistemic , ceea ce duce la o multiplicitate de rezultate clinice posibile, de exemplu artrit , manifest ri cutanate, simptome neurologice, cauzate de spirochete Gram-negative ale grupului BL. *Anaplasma phagocytophilum*, este agentul cauzator al anaplasmozei granulocitare umane (HGA), o boal febril care afecteaz omul și multe animale domestice, fiind larg r spândit în Europa (SKOTARCZAK, 2006; SPITALSKÁ, 2008), transmis în principal de c pu ele *I. ricinus* și *I. trianguliceps* (LIZ, 2000). Grupul febrilor p tate sunt cauzate de rickettsii (SFG), bacterii obligatoriu intracelulare transmise de diferite specii de artropode care sunt fie vectori și/sau rezervoare (RAOULT, 1997). Parazi ii intra-eritrocitari ai genului *Babesia* sunt cunoscu i nu numai pentru importan a lor veterinar și prin faptul c este o zoonoz transmis de c pu e care poate pune în pericol via a oamenilor.

În perioada 2011-2012 au fost luate în studiu un num r de 495 de c pu e colectate din dou loca ii, Delta Dun rii și Muntele Puciosu. Extrac ia ADN-ului genomic a fost realizat individual utilizând un kit comercial. Materialul prelucrat a fost reprezentat de probe de c pu e și esut conservate în alcool. Prezen a *Borrelia* spp. a fost examinat prin metode PCR folosind dou perechi de primeri de gen Ospa1, Ospa2 și 5SB, 23SB urmând protocolul descris de Priem și colab. (1997) și Majláthová (2008). *Anaplasma* spp. a fost identificat utilizând primeri de gen urmând protocolul lui Noaman și Shayan (2009). Prezen a *A. phagocytophilum* a fost examinat prin PCR folosind primeri specifici LA1/LA6, amplificarea unui

fragment de 444 bp din gena ANKA (CATUREGLI, 2000; WALLS, 2000). *Babesia* spp. au fost identificate prin amplificarea unui fragment al genei rARN conform protocolului lui Cardoso i colab. (2010). **Reacția PCR pentru detectarea *Rickettsia* spp. a fost realizat în conformitate cu protocolul descris de Tijssse-Klasen i colab. (2013) folosind primeri de gen care amplific un fragment de 360 bp din gena 16S. Pentru controlul calit ii reac iilor au fost incluse control pozitiv i negativ. Produsul amplificat a fost verificat în gel de agaroz de concentra ie 1.5%. Metoda RFLP a fost realizat în laboratorul nostru iar secven ializarea a fost realizat la firma Macrogen Europe, Amsterdam. Secven e de nucleotide au fost comparate cu secven e disponibile de referin a în GenBank utilizând baza Local Alignment Search Tool.**

Din totalul celor 495 de c pu e, identificate în func ie de specie i stadiul evolutiv, prevalen a infec iei cu *Borrelia burgdorferi* sensu lato este de 0.20% din total c pu e colectate, iar prevalen a din nimfe colectate din Delta Dun rii este de 0.55%. *Anaplasma* spp. a fost identificat în 2 nimfe i 2 larve cu o prevalen de 1%. ADN specific de *Babesia* spp. a fost descoperit în dou nimfe de *I. ricinus*. Prevalen a infec iei cu *Rickettsia* spp. este de 36.36%. Pentru analiza de secven ializare am ales un num r reprezentativ de c pu e care au fost trimise la firma Macrogen din Olanda. În urma analizei de secven ializare au fost identificate 4 specii de rickettsii: *Rickettsia monacensis*, *Rickettsia helvetica*, *Rickettsia slovacica* i *Rickettsia massiliae*. Din totalul celor 120 probe esut de p s ri s lbatice, au fost detectate 4 animale pozitive la infec ia cu *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Animalele pozitive apar în urm toarelor specii: *Corvus monedula*, *Parus major*, *Pica pica* i *Turdus pilaris*. În urma genotip rii prin RFLP a probelor pozitive pentru infec ia cu *Borrelia burgdorferi* sensu lato, s-au identificat urm toarele dou genospecii: *Borrelia garinii* i *Borrelia burgdorferi* s.s.

Acesta este primul studiu care evalueaz prevalen a infec iei cu *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *Babesia* spp. i *Rickettsia* spp. la c pu e i esuturi recoltate de la p s ri s lbatice din România. Rezultatele ob inute confirm prezen a celor 4 patogeni investiga i, aduc date epidemiologice i subliniaz importan a supravegherii p s rilor migratoare în contextul bolilor transmise de c pu e i al riscului pentru s n tatea uman .

Obiecticul **Capitolului 10** a fost de a evalua rolul corvidelor în ecologia unor boli transmise de c pu e. Este bine cunoscut faptul c speciile de corvidae nu sunt migratoare i prefer ca i habitat a ez rile umane, în special parcurile. În România avem aproximativ 384 specii de p s ri, iar ordinul Passeriformes include o popula ie mare din acest num r. Familia Corvidae include cele mai mari p s ri din ordinul Passeriformes, fiind mult mai dezvoltate decât alte p s ri din acest ordin, iar în România avem 8 specii. Ca o regul general , diversitatea comunit ii de p s ri în peisajele urbane este mult semnificativ mai mic decât în comunit ile rurale

(MARZLUFF, 2001).). Abilit ile lor de a exploata resursele de hran antropice i obiceiul lor de a pr da ou le i puii altor specii sugereaz c succesul lor poate fi par ial responsabil pentru e ecul multor alte specii de a prospera în zonele urbane. Popula ia european de corvidae este considerat în principal a fi rezident , efectueaz doar migra ii scurte (BUSSE, 1969). Num rul de perechi a început s creasc în ultimele decenii, concentrându-se în special în parcurile din marile ora e, unde g sesc hran la ghelele de gunoi.

Probele au fost colectate în vara anului 2013 din Parcul Arini, Sebe , jude ul Alba. Au fost colectate un num r de 108 corvidae. Fiecare cadavru a fost ambalat în pungi individuale, cu un cod de identificare unic. Au fost atent examinate pentru identificarea ectoparazi iilor, iar pe urm necropsiate i recoltate urm toarele organe: cord, ficat, rinichi i splin . Din cele 108 cadavre de corvidae au fost identificate dou specii: *Corvus monedula* (st ncu a) – 51 exemplare cu o prevalen de 47.22%, IC 95% (40.76-74.49) i *Corvus frugilegus* (cioara de sem n tur) – 57 exemplare cu o prevalen de 52.77%, IC 95% (25.51-59.24). Din cele 108 cadavre recoltate, 34 au prezentat infesta ie cu c pu e, prevalen a infesta iei este de 31.48%. În total au fost colectate un num r de 90 de c pu e, iar în urma identific rii stadiale: larve 76 (84.44%), nimfe 9 (10%), femele 3 (3.33%) i masculi 2 (2.22%). C pu ele identificate apar in la 6 specii: *Haemaphysalis concinna*, *Haemaphysalis parva*, *Haemaphysalis punctata*, *Hyalomma marginatum*, *Ixodes ricinus* i *Ixodes arboricola*. Analiza molecular a esuturilor a relevat urm toarele rezultate: 2 probe de cord pozitive la *Rickettsia* spp. i 10 probe pozitive cu *Anaplasma phagocytophilum*. ADN specific de *Rickettsia* spp. a fost g sit în 5 c pu e cu o prevalen de 5.55%. Cele 5 c pu e au fost colectate de pe ambele specii, 3 de pe *Corvus frugilegus* (3.61% i IC 0.75-10.20) i 2 de pe *Corvus monedula* (2.4% i IC 10.29-18.43). C pu ele pozitive apar in urm toarelor specii i stadii de evolu ie *H. punctata* 2 larve i 1 nimf , *H. concinna* 1 larv i l. *arboricola* 1 larv . ADN specific de *Anaplasma* spp. a fost descoperit în 8 c pu e cu o prevalen de 9.64% i IC 4.25-18.11 . Cele 8 c pu e pozitive au fost colectate 7 de pe *Corvus frugilegus* i una de pe *Corvus monedula*.

Acest studiu arat c agen i patogeni precum *R. monacensis*, *R. helvetica* i *A. phagocytophilum* sunt prezen i în c pu ele colectate de pe corvidae din parcurile publice. Chiar dac nivelul de patogenitate detectat în ace ti agen i patogeni nu este înc pe deplin cunoscut, se poate presupune c oamenii care viziteaz parcuri publice i animalele lor de companie pot prezenta un risc atunci când vin în contact cu ei. Prin urmare vizitatorii din parcurile publice ar trebui s fie con tien i de poten ialul mu c turii de c pu e i posibilele consecin e medicale ulterioare.

Concluzii generale și recomandări

Cercetarea de față prezintă primul studiu efectuat asupra cimpanzeilor colectați de la psittaculice din România și rolul acestora în transmiterea unor agenți patogeni cu potențial zoonotic.

Speciile de psittaculice migratoare și cu comportament de hrănire pe sol sunt parazitare cu mai multe cimpanzei decât cele rezidente. Psittaculicele cel mai des parazitare fac parte din familiile Corvidae, Turdidae, Muscicapidae, Sturnidae și Paridae, fiind considerate și speciile cele mai urbanizate. Identificarea mai multă a stadiilor ninfale de cimpanzei pe aceste psittaculice crește probabilitatea de a deveni mai infectate decât stadiul larvar prin hrănirea în prealabil pe alte gazde, proporțional crește și potențialul de infecție pentru om.

Identificarea agenților patogeni studiați atât în cimpanzei cât și din esuturi reprezintă un semnal de alarmă în ceea ce privește ecologia bolilor vectoriale și rolul psittaculicilor.

Bibliografie

1. ANDERSON, J.F., and MAGNARELLI, L.A., 1984, Avian and mammalian hosts for spirochete-infected ticks and insects in a Lyme disease focus in Connecticut. *Yale J. Biol. Med.* 57, 627–641.
2. ANDERSON, J.F., JOHNSON, R.C., MAGNARELLI, L.A., AND HYDE, F.W., 1986, Involvement of birds in the epidemiology of the Lyme disease agent *Borrelia burgdorferi*. *Infect. Immun.* 51, 394–396.
3. BERTHOLD, P., 1993, Bird migration. A general survey. Oxford (UK): *Oxford University Press*; *Berthold, P., Gwinner E. and Sonnenschein, Eds. 2003. Avian Migration. Springer, Berlin.*
4. BUSSE, P., 1969, Results of ringing of European Corvidae. *Actaorn.* 11, 8: 263-328.
5. CATUREGLI, P., ASANOVICH, K.M., WALLS, J.J., BAKKEN, J.S., MADIGAN, J.E., POPOV, V.L., DUMLER, J.S., 2000, ankA: an Ehrlichia phagocytophila group gene encoding a cytoplasmic protein antigen with ankyrin repeats. *Infect Immun. Sep*; 68(9):5277-83.
6. CHI IMIA, L., 2006, Ecology of Ixodidae in south-western Romania [in Romanian] *PhD Dissertation. Banat University of Agronomical Sciences and Veterinary Medicine Timișoara, Romania.*
7. COMSTEDT, P., BERGSTRÖM, S., OLSÉN, B., GARPMO, U., MARJAVAARA, L., MEJLON, H., BARBOUR, A.G., BUNIKIS, J., 2006, Migratory passerine birds as reservoirs of Lyme borreliosis in Europe. *Emerg Infect Dis.*; 12:1087–1095.
8. DE LA FUENTE, J., NARANJO, V., RUIZ-FONS, F., HÖFLE, U., FERNANDÉZ DE MERA, I. G., VILANÚA, D., et al., 2005, Potential vertebrate reservoir hosts and invertebrate vectors of *Anaplasma marginale* and *A. Phagocytophilum* in central Spain. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 5, 390–401.
9. DUBSKA, L., LITERAK, I., KOCIANOVA, E., TARAGELOVA, V., SYCHRA, O., 2009, Differential role of passerine birds in distribution of *Borrelia spirochetes*, based on data from ticks collected from birds during the postbreeding migration period in Central Europe. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 596–602.
10. FEIDER, Z., 1965, Arachnida. Acaromorpha, Suprafamily Ixodoidea (Ticks), Fauna of the Peoples Republic of Romania [in Romanian]. *Bucharest: Editura Academiei Republicii Populare Române.* 404 p.
11. FRANKE, J., MEIER, F., MOLDENHAUER, A., STRAUBE, E., DORN, W., and HILDEBRANDT, A., 2010, Established and emerging pathogens in *Ixodes ricinus* ticks collected from birds on a conservation island in the Baltic Sea. *Med. Vet. Entomol.* 24, 425–432.
12. FURMAN, D.P., LOOMIS, E.C., 1984, The Ticks of California (Acari: Ixodida). *University of California Publications, Bulletin of the*

California Insect Survey, Vol. 25. University of California Press, California, p.1-239.

13. GYLFE, A., BERGSTRÖM, S., LUNDSTRÖM, J., and OLSEN, B., 2000, Reactivation of *Borrelia* infection in birds. *Nature* 403, 724–725.
14. HASLE, G., 2010, Dispersal of Ticks and Tick-Borne Pathogens by Birds. Dynamics of Birds' Transport of Ticks to Norway. *Ph.D. thesis. Department of Biology, University of Oslo and Institute for Health and Society, Faculty of Medicine, University of Oslo.*
15. HILDEBRANDT, A., FRANKE, J., MEIER, F., SACHSE, S., DORN, W., STRAUBE, E., 2010, The potential role of migratory birds in transmission cycles of *Babesia* spp., *Anaplasma phagocytophilum*, and *Rickettsia* spp. *Ticks Tick-borne Dis.* 1, 105–107.
16. HOOGSTRAAL, H., KAISER, M.N., TRAYLOR, M.A., GABER, S., GUINDY, E., 1961, Ticks (Ixodoidea) on birds migrating from Africa to Europe and Asia. *Bull World Health Organ* 24: 197–212.
17. HUBALEK, Z., 2004, An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. *J Wildl Dis;* 40:639–59.
18. HUNFELD, K.P., HILDEBRANDT, A. & GRAY, J.S., 2008, Babesiosis: recent insights into an ancient disease. *International Journal for Parasitology*, 38, 1219–1237.
19. JONGEJAN, F., UILENBERG, G., 2004, The global importance of ticks. *Parasitology*, 129, S3–S14. *f2004 Cambridge University Press.*
20. KURTENBACH, K., DE MICHELIS, S., ETTI, S., SCHÄFER, S.M., SEWELL, H.-S., BRADE, V., KRAICZY, P., 2002, Host association of *Borrelia burgdorferi sensu lato* – the key role of host complement. *Trends in Microbiology*. 10(2), 74-79.
21. LIZ, J.S., ANDERES, L., SUMNER, J.W., MASSUNG, R.F., GERN, L., RUTTI, B. & BROSSARD, M., 2000, PCR detection of granulocytic ehrlichiae in *Ixodes ricinus* ticks and wild small mammals in western Switzerland. *Journal of Clinical Microbiology*, 38, 1002–1007.
22. LUNDGREN, D.L., THORPE, B.D., and HASKELL, C.D., 1966, Infectious diseases in wild animals in Utah VI. Experimental infection of birds with *rickettsia rickettsii*. *J. Bacteriol.* 91, 963–966.
23. MAJLÁTHOVÁ, V., MAJLÁTH, I., HRMADA, M., TRYJANOWSKI, P., BONA, M., et al., 2008, The role of the sand lizard (*Lacerta agilis*) in the transmission cycle of *Borrelia burgdorferi sensu lato*. *Int J Med Microbiol* 298: 161–167.
24. MARCU, O., RACZ Z., CIOACA, A., 1986 Mun ii Harghita *Ediția Munții Noștrii* 37. *Ed. Sport-Turism București.*
25. MARZLUFF, J.M., 2001, Worldwide increase in urbanization and its effects on birds, p. 19-47. *In J. M. Marzluff, R. Bowman, and R.*

- Donnelly [EDS.], *Avian ecology and conservation in an urbanizing world*. Kluwer Academic, Norwell, MA.
26. MIHALCA, A.D., DUMITRACHE, M.O., MAGDA, C., GHERMAN, C.M., DOMA, C., et al., 2012, Synopsis of the hard ticks (Acari: Ixodidae) of Romania with update on host associations and geographical distribution. *Exp Appl Acarol* 58: 183–206.
 27. MIRONESCU, I., 1966, A new Ixodid for the fauna of our country, parasitic on birds in Romanian. *An St Univ "Al I Cuza" Iași Biol* 12:61–65.
 28. NEWTON, I., 2008, The migration ecology of birds. London: Academic Press. 984 p.
 29. NOAMAN, V., SHAYAN, P., 2009, A new PCR-RFLP method for detection of *Anaplasma marginale* based on 16S rRNA. *Vet Res Commun. Jan*; 34(1):43–50.
 30. NORTE, A.C., DE CARVALHO, I.L., RAMOS, J.A., GONÇALVES, M., GERN, L., et al., 2012, Diversity and seasonal patterns of ticks parasitizing wild birds in western Portugal. *Exp Appl Acarol* 58: 327–339.
 31. OGDEN, N.H., LINDSAY, L.R., HANINCOVÁ, K., BARKER, I.K., BIGRAS-POULIN, M., CHARRON, D.F., et al., 2008, Role of migratory birds in introduction and range expansion of *Ixodes scapularis* ticks and of *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* in Canada. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 1780–1790.
 32. OLSEN, B., JAENSON, T.G.T. & BERGSTRM, S., 1995, Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato-infected ticks on migrating birds. *Applied and Environmental Microbiology* 61, 3082–3087.
 33. PAROLA, P., PADDOCK, D.C., and RAOULT, D., 2005, Tick-Borne Rickettsioses around the World: Emerging Diseases Challenging Old Concepts. *Clin Microbiol Rev.* 2005 Oct; 18(4): 719–756.
 34. PRIEM, S, RITTIG, M.G., KAMRADT, T., BURMESTER, G.R., KRAUSE, A., 1997, An optimized PCR leads to rapid and highly sensitive detection of *Borrelia burgdorferi* in patients with Lyme Borreliosis. *J Clin Microbiol*, 35(3):685–690.
 35. RAOULT, D., and ROUX, V., 1997, Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. *Clin. Microbiol. Rev.* 10:694–719.
 36. REED, K.D., MEECE, J.K., HENKEL, J.S., SHUKLA, S.K., 2003, Birds, migration and emerging zoonoses: West Nile virus, Lyme disease, influenza A and enteropathogens. *Clin Med Res.* 1:5–12.
 37. RICHTER, D., SPIELMAN, A., KOMAR, N., MATUSCHKA, F.R., 2000, Competence of American robins as reservoir hosts for Lyme disease spirochetes. *Emerg. Infect. Dis.* 6, 133–138.
 38. SKOTARCZAK, B., RYMASZEWSKA, A., WODECKA, B., SAWCZUK, M., ADAMSKA, M. & MACIEJEWSKA, A., 2006, PCR detection of

- granulocytic Anaplasma and Babesia in Ixodes ricinus ticks and birds in west-central Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 13, 21–23.
39. ŠPITALSKÁ, E., BOLDÍŠ, V., K STANOVÁ, Z., KOCIANOVÁ, E. & STEFANIDESOVÁ, K. 2008 . Incidence of various tick-borne microorganisms in rodents and ticks of central Slovakia. *Acta Virologica*, 52, 175–179.
 40. STRLE, F., 2004, Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *International Journal of Medical Microbiology*, 293, 27–35.
 41. WALLS, J.J., CATUREGLI, P., BAKKEN, J.S., ASANOVICH, K.M., DUMLER, J.S., 2000, Improved sensitivity of PCR for diagnosis of human granulocytic ehrlichiosis using epank1 genes of Ehrlichia phagocytophila-group ehrlichiae. *J Clin Microbiol. Jan*; 38(1):354-6.