

REZUMAT

Patologia animalelor sălbatice este un subiect de studiu relativ recent în lumea științifică internațională, prin comparație cu interesul acordat speciilor domestice, și recent în țara noastră. Importanța științifică și economică a acestor studii este însă incontestabilă: fauna silvatică a României este o veritabilă sursă de venituri, superficial exploatată datorită faptului că necesitățile biologice și statusul sanitar al acesteia sunt parțial necunoscute. Speciile sălbatice sunt rezervorul unor boli comune animalelor domestice și sursa unor zoonoze, prin urmare, elucidarea cât mai multor aspecte privind patologia acestora reprezintă un punct de interes major.

Rumegătoarele sălbatice luate în studiu – cerbul (*Cervus elaphus*) și căpriorul (*Capreolus capreolus*) – au efective bine reprezentate în zona de Nord și de Nord-Est a României, populațiile depășind uneori efectivele optime calculate. Programele de protejare și supraveghere a acestor specii, cotele de recoltă atent calculate, furajarea suplimentară pe timp de iarnă, au făcut ca efectivele să crească, iar valoarea lor biologică să sporească. Chiar și în acest context, mortalitatea există, riscul transmiterii bolilor între mediul silvatic și rumegătoarele domestice care pășunează liber în pădure se perpetuează, astfel încât o imagine cât mai aproape de realitate privind statusul sanitar este esențială.

Clarificarea acestor necunoscute reprezintă scopul prezentei teze de doctorat.

Prima parte, „*Stadiul cunoașterii*”, este constituită din 3 capitole care sintetizează principalele date din literatura de specialitate privind biologia principalelor specii de rumegătoare sălbatice din zona de Nord a Moldovei (capitolul I), privind etiomorfopatologia macroscopică și histologică a acestora (capitolul II) și principalele entități morbide care le afectează (capitolul III).

Partea a II-a, „*Cercetări proprii*”, este constituită din 2 capitole: capitolul IV prezintă scopul și obiectivele cercetării și materialele și metodele de lucru, iar capitolul V descrie rezultatele cercetărilor efectuate, incluzând discuțiile, interpretările, analiza și concluziile parțiale ce se desprind din cercetările efectuate. Concluziile sintetizează cercetările efectuate. Lucrarea este documentată printr-un număr de 90 de figuri, 9 tabele, 12 grafice și 206 titluri bibliografice.

Investigațiile s-au efectuat pe 138 căpriori și 35 cerbi nobili. Materialul de studiu a fost reprezentat de rumegătoarele sălbatice recoltate în timpul vânătorilor organizate și de animale extrase din efectiv din cauza unor defecte majore care le exclud de la reproducție.

S-au efectuat examene necropsice și s-au prelevat probe din țesuturi și organe pentru examene histopatologice. S-a ținut cont de particularitățile leziunilor survenite prin împușcare.

Majoritatea probelor au fost primite în stare congelată; probele au fost prelevate în decurs de maxim 4 ore după împușcarea exemplarului respectiv și congelate imediat după prelevare, apoi transportate la Laboratorul de Anatomie Patologică și Medicină Legală din cadrul Facultății de Medicină Veterinară Iași. O mică parte dintre probe a fost prefixată în formaldehidă, soluție apoasă 10%, și fixată, după fasonare, în laboratorul nostru.

Necropsia s-a efectuat prin metoda eviscerării și examinării pe sisteme și aparate organice, respectiv deschiderea marilor cavități seroase, o prealabilă inspecție in situ a sistemelor și aparatelor organice, eviscerarea acestora cu păstrarea legăturilor dintre organe și apoi examinarea lor după metodologia uzuală.

În majoritatea cazurilor nu a fost posibilă transportarea întregului cadavru la Laboratorul de Anatomie Patologică, astfel că examinarea necropsică a fost realizată în teren, la disciplină ajungând organele cu leziuni sau fragmente de organe, în stare proaspătă sau, mai frecvent, congelată.

Examinarea histopatologică s-a făcut pe preparate histologice permanente obținute prin metoda includerii în parafină, care se derulează după următorii timpi operatori: recoltarea, fixarea, includerea în parafină, secționarea la microtom, colorarea, montarea și examinarea microscopică propriu-zisă, timpi operatori ai tehnicii de obținere a preparatelor histologice permanente prin metoda includerii la parafină.

Locul din care s-a recoltat proba a fost ales în funcție de contextul lezional și de scopul investigațiilor. S-au preferat zonele reprezentative de la marginea leziunii, în așa fel încât fragmentul să cuprindă atât țesut modificat cât și țesut normal.

Dimensiunile prelevatului au fost de aproximativ 1cm³: 15 mm lungime, 10 mm lățime și 5-7mm grosime, pentru ca fixatorul să pătrundă repede în toată proba. După o fixare de 3-4 ore, probele au fost fasonate cu lame ascuțite, noua grosime fiind de 4-5 mm, apoi au fost introduse în fixator proaspăt.

Fixarea a fost executată în flacoane de sticlă sau de plastic de 100-200 ml, în care volumul fixatorului a depășit de aproximativ 20 ori pe cel al pieselor din interior.

Fixatorul universal a fost formaldehida (formol) 10% soluție apoasă. S-a preferat acest fixator pentru buna capacitate de fixare prin coagulare a proteinelor structurale și pentru viteza de penetrare, toleranța și intervalul de timp foarte mare pe durata căruia asigură conservarea.

Pentru extragerea sărurilor de calciu s-a utilizat lichidul Bouin în compoziția căruia intră 15 părți acid picric, 5 părți formol și o parte acid acetic glacial. Lichidul Bouin se poate utiliza imediat după recoltare, nefiind necesară fixarea prealabilă a pieselor în formol.

Includerea în parafină s-a derulat în 4 faze succesive: deshidratarea, clarificarea, impregnarea cu parafină și includerea propriu-zisă.

Secționarea histologică s-a realizat cu ajutorul microtomului pentru parafină care oferă condiții pentru obținerea unor secțiuni cu grosimea de 5-6 μm .

Secțiunile au fost colorate prin metodele Hematoxilină-Eosină-Albastru de metil (HEA), May-Grunwald-Giemsa (MGG) și Acid Periodic – Fuxină Schiff (PAS).

Efectivele de rumegătoare sălbatice din județele luate în studiu au avut, pe perioada efectuării cercetărilor, o tendință continuu ascendentă, în majoritatea cazurilor depășind efectivele optime calculate în funcție de bonitatea fondurilor de vânătoare. Singura excepție a fost reprezentată de efectivele de cerb nobil de pe teritoriul județului Botoșani care, în ciuda tendinței ascendente, au rămas sub efectivul optim calculat.

Necropsiile efectuate nu au permis identificarea unor boli generale, animalele examinate fiind în stare generală acceptabilă de sănătate. Examenele necropsice au relevat totuși unele leziuni organice sau organopatii, mai mult sau mai puțin grave, prezentate în cadrul tezei grupate pe organe sau aparate și sisteme.

La nivelul aparatului cardiovascular am identificat un caz de sarcocistoză miocardică asociată unor zone de congestie și microhemoragii interfibrilare. De asemenea, a fost identificat un caz de pericardită cronică fibrinoasă. Miocardopatiile au fost mai frecvente, manifestându-se prin leziuni degenerative ale fibrelor miocardice până la stadiul de hialinizare. În zonele cu leziuni mai vechi s-au observat fenomene de fibroză interstițială.

Organopatiile aparatului respirator au fost cele mai frecvente. În cadrul leziunilor aparatului respirator au predominat leziunile legate de infestații parazitare, mai frecvent cu *Protostrongylus spp.*. Agenții etiologici incriminați au fost identificați pe baza caracterelor morfologice și a leziunilor pe care le-au produs ca aparținând speciei *Protostrongylus*, (*Protostrongylus rufescens*), nematod din familia *Protostrongylidae*, care se localizează în alveole, bronhiole și bronhiile mici și determină bronhopneumonie cronică. Pe preparatele histologice obținute din pulmonii infestați am identificat atât ouă de paraziți cât și larve în migrație. La unul dintre cazuri, reacția tisulară asociată prezenței larvelor a fost mult mai marcată. Larvele de protostrongili apar înconjurate de pseudonoduli de proliferare limfohistiocitară. Se remarcă prezența zonelor de emfizem compensator, subpleural, adiacent zonelor de densificare pulmonară. Prezența ouălor și a larvelor de paraziți și evoluția simultană a

unei pneumonii interstițiale, duc la acumularea în epiteliul bronhiilor a celulelor necrozate și descumate, a secrețiilor și uneori a hialinului imun.

La 3 cazuri au fost observate aspectele macroscopice ale bronhopneumoniei crupale: pulmonii ușor destinși cu aspect marmorat pe suprafața pleurei cât și pe suprafața de secțiune, consistență crescută, secțiunea relativ uscată; la proba plutirii fragmentele de pulmon cad la fundul vasului cu apă. Leziunile identificate la nivelul pulmonilor au fost cele caracteristice bronhopneumoniei crupale, cu toate fazele ei evolutive coexistând.

În fragmentele de pulmon examinate histologic se remarcă prezența în secțiune transversală a larvelor de strongili care au generat o reacție locală caracteristică. Astfel, tabloului general de hiperplazie limfoidă peribronșică și îngroșare a interstițiilor interalveolare i se adaugă o infiltrare focalizată cu limfocite. Nodulul vierminos se constituie într-un veritabil granulom parazitar compact, cu o zonă centrală de necroză de coagulare în care se evidențiază și parazitul în secțiune transversală, o zonă mediană de proliferare epitelioido-gigantă și o zonă periferică de proliferare în care se evidențiază histiocite, limfocite, plasmocite, fibroblaști și fibrocite.

La nivelul bronșiolelor se observă prezența în lumenul acestora a unor cantități variabile de mucus și de fibrină, care în unele cazuri duc la obstruarea lor. Epiteliul bronșiolelor fiind extrem de delicat, prezintă zone de leziuni reversibile, cu celule degenerate și exfoliate, care plutesc în lumen.

În pulmonul unui alt caz s-a diagnosticat congestia pasivă gravă, cu ectazia vaselor sangvine care apar pline cu hematii. Asociat acestor leziuni au fost identificate zone mai mari sau mai discrete de emfizem pulmonar.

Au fost identificate leziuni de bronhopneumonie catarală acută, cu hiperemie, hipersecreție de mucus, infiltrarea și dilacerarea mucoasei prin exsudat seros. Se observă activarea mai mult sau mai puțin accentuată a țesutului limfoid asociat căilor respiratorii sub formă difuză sau nodulară, în unele cazuri putându-se vorbi de bronhopneumonie limfohistiocitară.

Menționăm prezența și la rumegătoarele sălbatice a membranelor hialine. În zonele limitrofe leziunilor de bronhopneumonie crupală, se evidențiază prezența membranelor hialine în alveole, ca mulaje PAS-pozitive conținând nuclei ai celulelor descumate și ale celor migrate din spațiul interalveolar.

La un caz diagnosticat cu pasteureloză, bronhopneumonia crupală este asociată și cu pleurezie fibrinoasă. În unele zone, inflamația pleurei a evoluat deja către faza finală, cu hiperplazie predominant fibroblastică, ce determină îngroșarea și colagenizarea pleurei, care apare pliată și acoperită de exsudat superficial predominant celular.

În cazul unui căprior cu vârsta aproximată la 7 ani, a fost diagnosticată o formă de necrobaciloză viscerală cu afectare pulmonară, hepatică și testiculară.

La nivelul acestor organe s-au observat focare gri-cenușii de dimensiuni variabile, nedepășind însă diametre de 2-2,5 cm, care la secționare exprimă un exsudat de consistență relativ crescută, cu miros fetid.

Histologic, la nivelul pulmonului a fost diagnosticată bronhopneumonia necrotică, cu zone de necroză structurată, în care se mai poate identifica arhitectura normală a alveolelor pulmonare și a țesuturilor interaleolare, și cu zone în care procesul evolutiv avansat a șters cu totul structura specifică a țesutului, înlocuindu-l cu o masă amorfă pulverulentă de detritus celular.

La nivelul aparatului digestiv, a fost observată o ușoară infestație intestinală cu oochiști ai genului *Eimeria*.

Ficatul a fost sediul unui caz de congestie activă, caracterizat prin excesul de sânge în capilarele sinusoide cât și între hepatocite, cordoanele Remak apărând ușor comprimate.

La un caz de necrobaciloză s-au observat focare hepatice de necroză gălbui-cenușii. Hepatita necrotică a fost surprinsă atât în faza de necroză structurată cât și în cea de necroză astructurată. În primul caz s-a remarcat persistența unor cordoane Remack degenerate, în timp ce în al doilea, hepatocitele au dispărut complet, plasmalemele fiind fragmentate până la dispariție, iar nucleii dezintegrați.

În rinichi s-a constatat tromboza parietală a unei artere renale în faza inițială de organizare, care a determinat reducerea cu aproximativ 50% a lumenului vasului. La un alt exemplar de cerb, tubii uriniferi au fost afectați de distrofie granulară, cu prezența de cilindri hialini în lumen, mărturie a proteinuriei. La nivelul glomerulilor, s-au observat leziuni de glomerulonefrită membranoproliferativă, caracterizată prin hipercelularitate datorată proliferării endoteliului capilar glomerular, îngroșarea membranei bazale și a mezangiumului capilarelor sangvine. În unele zone mai sever afectate s-a constatat fibroza interstițială, indicator al glomerulonefritei cronice.

La alt caz, la nivelul parenchimului renal s-au observat leziuni de necroză tubulară de coagulare, cu afectarea epiteliului tubular și cu apariția de resturi proteice intraluminale, provocată de ischemia locală sau, uneori, de intervenția factorilor nefrotoxici.

Aparatul locomotor, respectiv musculatura, a fost infestată fără excepție, mai intens sau moderat cu *Sarcocystis spp.* Gradul de infestare a variat între 3 și 21 de sarcochiști pe câmp microscopic (obiectiv 4).

Și la nivel testicular am identificat, în cazul cu necrobaciloză, zone de orhită exsudativă care evoluează către o orhită necrotică, cu necroze tubulare extinse.