

REZUMAT

Pentru obținerea de rezultate, pe lângă metodele de creștere, îngrijire și alimentație care joacă un rol important, prevenirea bolilor la păsări, în general, și a bolilor infecțioase în special, constituie un factor determinant, întrucât, deseori, asemenea entități decimează efectivele de păsări.

Una dintre bolile cu o mare importanță economică și sanitară este și influența (gripa) aviară, care, în secolul trecut, a produs mari pierderi aviculturii, practic din toată lumea, dar mai ales din Europa, inclusiv în România. După 1950, această boală s-a înregistrat mai rar, lăsând impresia că este substituită în teritoriu de o altă entitate pestiformă (boala de Newcastle), dar fără nici o legătură între agenții lor etiologici.

Astăzi, influența (gripa) aviară este semnalată cu o frecvență relativ redusă, în diverse zone ale globului. Deși unele epidemii se soldează cu pierderi importante prin mortalitate la păsări, îngrijorarea pe care această entitate o produce și amenințarea extraordinară pe care o reprezintă, nu se datorează pierderilor economice, cât mai ales faptului că virusurile gripale aviare reprezintă o sursă inepuizabilă de infecție pentru om și alte specii de mamifere. De altfel, cele mai multe izbucniri epidemice de gripă umană, nu au avut la origine sușe velogene de virusul influenței (gripei) aviare, ci sușe slab patogene sau avirulente. Asemenea virusuri gripale aviare pot produce la porc îmbolnăviri sau numai infecții subclinice, dar generatoare de grave epidemii umane, prin reasortări genomice cu alte sușe gripale, de origine umană, suină sau tot aviară.

Virusurile gripale aviare pot fi izolate din focare active de influență aviară, de mai mare sau mai mică gravitate, dar și de la păsări cu forme discrete de boală sau chiar aparent sănătoase. Dintre păsările domestice, influența aviară a fost semnalată cel mai frecvent la curcă, rață, găscă, potârniche, fazan, găină și diverse psitacide, iar dintre numeroasele specii de păsări sălbatice, virusurile gripale au fost izolate, mai ales, de la păsările acvatice care populează țărmurile (pescăruși, rândunele de mare), precum și de la păsările migratoare, în special palmipede (rațe și găște). Mai mult, în cazul păsărilor s-a dovedit că virusul gripal aviar se poate menține multă vreme într-o populație de păsări sălbatice, în special a celor migratoare sau acvatice, de la care pot trece, din când în când, dar nu frecvent, la animalele domestice.

De asemenea, a fost dovedită circulația virusurilor gripale, în ambele sensuri, între păsările sălbatice (în special palmipelele) sau domestice (în special curcile și fazanii) pe de o parte și diverse specii de mamifere, cum este porcul, nurca, foca, delfinul, omul și probabil și alte păsări.

Date fiind pe de o parte prezența condițiilor pedoclimatice și ecologice favorabile prezenței și existenței păsărilor acvatice și migratoare, iar pe de altă parte, posibilitățile de contact între palmipelele domestice și cele sălbatice, migratoare, favorizate de sistemul de creștere, în scopul întregirii cunoștințelor asupra circulației acestor virusuri gripale, s-au întreprins o serie de cercetări care fac obiectul tezei de doctorat.

Cercetările au urmărit, prin investigații serologice, prezența și circulația virusurilor gripale la diferite specii de păsări domestice și sălbatice de pe teritoriul județului Galați, aspectele epidemiologice, clinice și anatomopatologice într-un episod de gripă aviară, semnificația unor teste serologice și virusologice în diagnosticul gripei aviare și strategia de supraveghere și prevenire a gripei aviare în județul Galați.

Lucrarea cuprinde 156 de pagini, fiind redactată în IX capitole și este structurată în două părți distincte. Prima parte (cap. I, II, III), pe parcursul a 39 pagini, reprezentând 24,84%, sintetizează principalele date bibliografice din literatură de specialitate privitor la influența aviară și reprezintă „*Stadiul actual al cunoașterii*”, iar partea a doua (cap. IV, V, VI și VII), extinsă pe 118 pagini, ceea ce reprezintă 75,16 %, se referă la „*Cercetările proprii*”. Fiecare capitol, din partea a doua, are în cuprins material și metode de lucru, rezultatele obținute cu discutarea lor și concluzii parțiale.

Prima parte (capitolele I, II și III) reprezintă o sinteză a literaturii referitoare la influențele animale, cu accente deosebite asupra tipurilor și subtipurilor de influenzavirus întâlnite și a circulației lor, în funcție de gazdele rezervor natural, precum și la stadiul actual pe plan mondial al cercetărilor întreprinse, constituind „*Stadiul actual al cunoașterii*”.

În **Capitolul I**, intitulat „*Date bibliografice privind istoricul, răspândirea și importanța influenței aviare*”, sunt prezentate datele disponibile la ora actuală legate de istoricul, răspândirea, importanța economică și sanitară a infecțiilor cu virusurile gripale.

La om, prima mare pandemie de gripă, se pare că a avut loc în anul 1850, după care, în 1918 (origine porcină). Alte epidemii au apărut în 1957 și 1968 (surse presupuse aviare) și în 1976 (origine porcină).

De atunci și până în prezent, în literatura internațională a apărut un număr imens de lucrări științifice, care și-au propus să elucideze, pe baza cunoașterii profunde a naturii și proprietăților virusurilor gripale ale mamiferelor, inclusiv ale omului, interrelații care, de multă vreme sesizate, nu au putut fi clarificate în întregime nici până astăzi.

Capitolul II, intitulat „*Date bibliografice privind etiologia, epidemiologia și patogeneza gripei aviare*” tratează caracteristicile etiologice și epidemiologice ale infecțiilor cu virusurile influenței (gripale). Au fost trecute în revistă taxonomia, morfologia, replicarea, rezistența, structura antigenică a virusului, precum și receptivitatea, sursele de infecție, căile și modul de transmitere în influențele aviare.

Capitolul III, intitulat „*Date privind simptomatologia, morfopatologia, diagnosticul, profilaxia și combaterea în influența aviară*”, prezintă simptomele clinice și modificările lezionale întâlnite, în funcție de forma de evoluție a bolii. De asemenea, sunt prezentate metodele de diagnostic, măsurile de prevenire și de imunoprofilaxie. Sunt trecute în revistă, metodologia examenului virusologic, precum și metodele serologice utilizate pentru depistarea anticorpilor specifici.

Partea a 2-a (capitolele IV, V, VI, VII și VIII) se referă la cercetările proprii.

Premisele de la care s-a pornit în efectuarea cercetărilor proprii au fost de a evidenția, în baza examenelor serologice, pe de o parte, prezența și distribuția subtipurilor de *Influenzavirus* tip A la păsările de curte și la unele specii de păsări sălbatice de apă, din zona de Sud - Est a României (județul Galați), iar pe de altă parte, o mai bună cunoaștere a circulației și a posibilităților de apariție și difuziune a gripei aviare.

Cercetările serologice întreprinse s-au bazat pe faptul că, prezența anticorpilor specifici în serul sanguin al păsărilor domestice și sălbatice, reprezintă o dovadă a trecerii organismului respectiv prin infecția cu virusul gripal, ca și persistența îndelungată a anticorpilor specifici în serul păsărilor trecute prin infecție.

În **capitolul IV**, intitulat „*Scopul și obiectivele cercetării*”, este prezentată, ca urmare a importanței infecțiilor gripale pentru populația animală și umană, necesitatea întreprinderii de cercetări serologice privind, pe de o parte, prezența și circulația diferitelor subtipuri de *Influenzavirus* tip A la păsările de curte, dar și la cele de apă (palmipede) în condițiile ecologice existente în județul Galați, iar pe de altă parte, pentru aprofundarea cunoștințelor referitoare la rolul păsărilor sălbatice de apă, ca principale rezervoare de infecție.

În acest scop, cercetările întreprinse au urmărit obiectivele:

1. Stabilirea prezenței și prevalenței reacțiilor serologice pozitive la diferite specii de păsări domestice;
2. Izolarea și identificarea virusului gripal;
3. Prezentarea unor aspecte epidemiologice, clinice și lezionale în influența (gripa) aviară;
4. Elaborarea unei strategii de supraveghere și control a gripei aviare în județul Galați.

În **capitolul V**, intitulat „*Cercetări privind prezența și prevalența reacțiilor serologice pozitive la păsările domestice*”, sunt redate rezultatele investigațiilor efectuate, prin reacția de inhibare a hemaglutinării a 2812 probe de ser recoltate de la galinacee (găini, curci) și palmipede (rațe, găște), pentru evidențierea anticorpilor specifici anti-*Influenzavirus*. Probele de ser sanguin recoltate în perioada 2008 - 2009, de la galinacee (1040 de la găini și 560 de la curci) au reacționat serologic negativ, în totalitate (100%), față de antigenul de *Influenzavirus*.

Lipsa reacțiilor serologice pozitive a serurilor recoltate de la galinacee, atât din sectorul de creștere extensiv (găini și curci), cât și a celor din sistemul intensiv (găini), denotă că păsările nu au venit în contact cu sursa de infecție.

În schimb, din cele 475 seruri recoltate de la rațe, în anul 2008, un număr de 5 au reacționat pozitiv față de antigenul H₅, ceea ce reprezintă 1,03%, iar din cele 395 seruri recoltate de la găște, un număr de 3 au reacționat serologic pozitiv față de antigenul H₅ folosit în reacția de inhibare a hemaglutinării, ceea ce reprezintă 0,70 %.

În anul 2009, din cele 174 probe, un număr de 3 (1,14%), au reacționat pozitiv, iar 171 (98,86%) seruri au fost negative. De asemenea, din cele 168 seruri prelevate de la găște, 3 (1,78%) au reacționat serologic pozitiv față de antigenul H₅, iar 165 (98,22%) au fost negative.

Prezența reacțiilor serologice pozitive la palmipede evidențiază că subtipul H₅ de *Influenzavirus* (după hemaglutinină) circulă printre păsările de apă domestice din unele localități ale județului. Totuși, se poate aprecia că reacțiile serologice negative la galinacee și pozitive la palmipele domestice, precum și lipsa manifestărilor clinice denotă faptul că subtipul H₅ de hemaglutinină circulant este slab patogen.

Având în vedere condițiile ecologice, existența păsărilor sălbatice de apă și a posibilităților de contact cu palmipele domestice crescute în libertate, precum și reacțiile serologice pozitive la unele păsări domestice de apă (palmipede), investigațiile au urmărit, de asemenea, izolarea și identificarea virusului gripal (**Capitolul VI**).

Izolarea virusului s-a bazat pe inocularea în cavitatea alantoidiană a ouălor embrionate de gaină în vârstă de 9-11 zile, a unei cantități de 0,2 ml suspensie de materiale patologice, prelevate cu tamponare traheale și cloacale de la palmipede (găște) santinelă.

Prezența influenzavirusului tip A, familia *Orthomyxoviridae*, în lichidul amniotic prelevat de la embrionii morți după 72 ore la doilea pasaj, s-a confirmat prin tipizare cu ser pozitiv monospecific față de cele 16 hemaglutinine cunoscute, folosind reacția de hemaglutinare.

Identificarea s-a realizat cu seruri pozitive de mare specificitate pentru subtipurile H și N ale virusului influenței aviare prin reacția de inhibare a hemaglutinării.

Izolatele virale testate prin reacția de hemaglutinare au avut titrul de $6 \log_2$ (1/64). Lichidele alantoamniotice cu activitate hemaglutinantă au fost testate prin reacția de hemaglutinare și inhibare a hemaglutinării pentru virusul influenței tip A cu ser pozitiv specific față de subtipul de hemaglutinină H₅.

Prin reacția de inhibare a hemaglutinării cu seruri pozitive de referință a fost identificat virusul influenței aviare, subtipul de hemaglutinină H₅, cu valori ale titrului de 1/64 și 1/128.

Izolatele virale aparținând subtipului de hemaglutinină H₅ au fost testate prin reacția de inhibare a neuroaminidazei și s-a determinat că aparțin subtipului de neuroaminidazei N₃.

Identificarea subtipului de neuraminidază, coroborată cu situația epidemiologică (contactul cu păsările de apă sălbatice, absența morbidității și mortalității) și examenul virusologic (două pasaje) au condus la diagnosticul de infecție cu virus slab patogen (LPAI), fiind identificat subtipul H₅N₃.

Capitolul VII, intitulat “*Cercetări epidemiologice, clinice și lezionale în influența aviară*”, prezintă rezultatele investigațiilor într-un episod de influență aviară. Astfel, din punct de vedere epidemiologic, s-a constatat că gospodăriile particulare din localitatea „L”, unde s-au înregistrat cazurile de îmbolnăvire și moarte subită la găini, erau situate în apropierea unei bălți, înconjurate de zone cerealiere. Păsările crescute în sistem extensiv liber aveau acces la apă, în special rațele și găștele, coabitând uneori cu cele sălbatice, multe dintre ele migratoare. Aceste efective de păsări crescute în semisălbăticie, precum și cele cărora li se permite părăsirea zilnică a curții exploatației gospodărești a populației, au contacte permanente sau periodice, regulate, cu păsări sălbatice, implicit cu specii incriminate în epidemiologia bolii (influența aviară).

Se presupune, cu o mare probabilitate, că sursa de infecție a fost reprezentată de palmipelele sălbatice (rațe, găște) infectate care au venit în contact direct sau indirect cu efectivele de păsări acvatică.

Analizând apariția îmbolnăvirilor din punct de vedere al condițiilor climatice se constată că acestea au apărut în perioada de timp în care se înregistrau frecvent temperaturi pozitive de peste 10°C, în luna martie 2010. Acest lucru ne sugerează faptul că pe parcursul iernii, virusul gripal a rămas în regiune, o dată cu păsările care l-au adus, ceea ce înseamnă că riscul transmiterii la păsările care nu migrează este foarte mare. Păsările infectate excretă virusul în concentrații ridicate prin intermediul fecalelor, precum și prin excrețiile nazale și oculare. Lipsa altor îmbolnăviri în zonă, dar și lipsa evoluției ulterioare a unor focare de influență aviară, ne sugerează că păsările sălbatice de apă locale nu au fost contaminate, deci gripa aviară nu este endemică.

Clinic, din cele 269 păsări, simptome de îmbolnăvire s-au înregistrat la 7 păsări, ceea ce reprezintă o morbiditate de 2,60%. De asemenea, din analiza rezultatelor se remarcă un procent de

morbiditate diferit în funcție de gospodărie. Astfel, în gospodăria numărul 1, din cele 154 păsări de curte existente, s-au îmbolnăvit 4 păsări, ceea ce reprezintă 2,60%, iar din gospodăria numărul 2, din cele 115 păsări de curte, s-au îmbolnăvit 3 păsări, ceea ce reprezintă 2,61%.

Clinic, păsările examinate au prezentat adinamie și depresie puternică, asociată cu horiplumație, inapetență și sete exagerată, hipersecreție lacrimală respirație dispneică și zgomotoasă, cianoza crestei și bărbițelor, încetarea bruscă a ouatului, hemoragii subcutanate, diaree, ocazional simptome nervoase și moarte rapidă.

Pe măsură ce boala avansa, starea de depresiune se accentua, pasărea se deplasa cu greutate, stătea ghemuită, cu aripile lăsate, cu pleoapele semiînchise, edemațiate și capul sprijinit în pământ. Dacă evoluția a durat mai mult de 1-2 zile, s-au observat tulburări nervoase, reprezentate prin atitudini curioase, convulsii, vârteje, amauroză, contracții clonice ale diferitelor grupe musculare, paralizii, etc.

Examenul necropsic efectuat la cele 7 cadavre (găini) a evidențiat leziuni de septicemie, caracterizate prin aspect congestivo-hemoragic.

Analizând frecvența leziunilor macroscopice, se poate observa că cel mai frecvent s-a înregistrat aspectul congestivo-hemoragic al organelor (2,60%) și cianoza crestei și bărbițelor (2,23%), ceea ce denotă o evoluție acută septicemică, iar cel mai puțin frecvent leziunile la nivelul stomacului, îngroșarea peretelui și prezența unui mucus (1,49%).

Examenul virusologic efectuat prin inocularea în cavitatea alantoamniotică a embrionilor de găină în vârstă de 9-10 zile, a 0,2 ml material patologic reprezentat de triturate de organe cu leziuni, a permis izolarea unui virus cu activitate hemaglutinantă, la titrul de 6 log₂ (1/64). Prin reacția de inhibare a hemaglutinării cu seruri pozitive de referință a fost identificat virusul influenței aviare, înalt patogen (HPAI), subtipul H₅N₁.

În capitolul VIII intitulat „*Măsuri strategice de supraveghere și control în gripa aviara*” este menționat „Programul de măsuri – cadru pentru prevenirea și controlul gripei aviare”, elaborat în baza următoarelor acte oficiale:

- Ordonanța nr. 42 din 29 ianuarie 2004 privind organizarea activității veterinare;
- Legea nr. 215 din 27 mai 2004 pentru aprobarea Ordonanței Guvernului nr. 42/2004 privind organizarea activității veterinare;
- Legea nr. 127 din 17 mai 2005 privind aprobarea Ordonanței de urgență a Guvernului nr. 88/2004 pentru modificarea și completarea Ordonanței Guvernului nr. 42/2004 privind organizarea activității sanitar-veterinare și pentru siguranța alimentelor;

- Ordinul nr. 98 din 7 octombrie 2005 privind aprobarea Planului de Contingență (de necesitate) al României, pentru influență aviară;
- Ordinul ANSVSA nr. 54 din 28 februarie 2007 privind măsurile de control pentru gripa aviară.

Programul cadru evidențiază că menținerea efectivelor libere de virusurile influenței aviare necesită în permanență aplicarea celor mai eficiente măsuri de supraveghere și control, printre care: măsuri de biosecuritate, măsuri în zona de protecție sanitară veterinară, măsuri în zona de supraveghere sanitară veterinară, măsuri de supraveghere activă, măsuri de control, elaborarea și respectarea planului de contingență și instituirea celulei de criză.

În capitolul IX intitulat “**Concluzii finale**”, sunt sintetizate în cele 16 formulări, principalele aspecte desprinse în urma cercetărilor efectuate privind influența aviară.

În lucrare sunt expuse un număr de 19 tabele și 66 figuri, iar bibliografia cuprinde 116 titluri.