

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚELE VIEȚII „REGELE MIHAI I”  
DIN TIMIȘOARA**

**ȘCOALA DOCTORALĂ – MEDICINĂ VETERINARĂ**



**Fenomenul de rezistență la antibiotice în diverse patologii  
infecțioase ale animalelor de fermă**

**TEZĂ DE ABILITARE**

**Conf. Dr. PASCU Mariana Corina**

Facultatea de Medicină Veterinară Timișoara

Timișoara

2024

## PARTEA A. REZUMATUL TEZEI

Teza de abilitare, cu titlul **Fenomenul de rezistență la antibiotice în diverse patologii la animalele de fermă** este structurată în patru părți principale:

**Partea A** prezintă sinteza tezei de abilitare.

**Partea B**, structurată pe șapte secțiuni, prezintă cele mai importante realizări științifice și profesionale ale candidatei, după finalizarea tezei de doctorat. La început sunt prezentate relevanța, originalitatea și impactul rezultatelor științifice. După o scurtă trecere în revistă a evoluției activității profesionale și didactice, precum și a activității publicistice, sunt descrise realizările științifice axate pe două direcții majore, și anume: (a) izolarea și identificarea genotipică și fenotipică a bacteriilor implicate în diverse patologii la animalele de fermă și producerea de autovaccin ca măsură complementară de prevenire și (b) determinarea comportamentului la antibiotice a tulpinilor izolate, cu evidențierea tulpinilor MDR și a patotipurilor de rezistență identificate.

Principalele realizări științifice obținute, prezentate în contextul stadiului actual al cunoștințelor și cercetărilor din domeniu, au fost următoarele:

- Cazuri de mamită clinică și subclinică au fost identificate în toate fermele luate în studiu, dar mamita subclinică a fost prezentă în 90% din probele recoltate, mamita clinică fiind în proporție mult mai redusă. Bacteriile identificate din mamite clinice au fost reprezentate de stafilococi (11,20%), streptococi (9,48%), *E. coli* (8,62%), *Corynebacterium spp* și *Enterococcus spp* (11,20%). Din mamitele subclinice au fost izolați în proporția cea mai mare stafilococi (31,90%), urmați de streptococi (12,94%) și *E. coli* (5,71%). *Corynebacterium spp* și enterococi au fost izolați în proporție mai mare decât din mamitele clinice (6,02% și 6,90%). Tot din mamite subclinice au fost izolate 5 tulpini de *Enterobacter spp*.

- Toate cele 39 de izolate din cazurile de mamită studiate, aparținând mai multor genuri bacteriene au fost rezistente la cel puțin trei agenți antimicrobieni. Fenomenul de rezistență s-a manifestat față de mai multe antibiotice precum: eritromicina, amoxicilina-acid clavulanic, ampicilina, tetraciclina, gentamicina, antibiotice care sunt utilizate frecvent în tratamentul mamitelor la vaci.

- Stabilirea patotipului unei tulpini este importantă pentru cunoașterea sindroamelor clinice asociate acesteia în cazul speciei gazdă de interes și pentru adecvarea măsurilor de biosecuritate și / sau a celor de metafilaxie / profilaxie consecutive. Rezultatele obținute în urma studiului de identificare genotipică a tulpinilor de *E. coli* de la vaci încadrează o parte dintre tulpini în patotipul EPEC (enteropatogen) atipic / STEC (shigatoxinogen) / EIEC (enteroinvaziv), fiind caracterizate de prezența genelor care codifică atașarea la enterocit (*eaeA*) și apoi invazia organismului (*ompA*, *fimH*), unele dintre ele având și gena care codifică rezistența la complement (*iss*) și pe cea care codifică verotoxina de tip II, specifică unor tulpini de origine umană, bovină și varianta suină, ceea ce explică probabilul sindrom septicemic.

- Toate tulpini testate au prezentat rezistență la mai mult de două antimicrobiene și au fost sensibile numai la ceftiofur. Trei tulpini au prezentat rezistență multiplă la florfenicol, enroxil, colistină și ampicilină-sulbactam și o tulpină a prezentat rezistență la enroxil, neomicină și colistină. Două patotipuri de rezistență au fost identificate în acest studiu: FFC;ENR;N;COL și ENR;N;COL.

- Diferite gene de virulență și diferite combinații ale acestora pot fi prezente în diferite tulpini EPEC. Aceasta poate explica de ce este dificil să se obțină o protecție heterologă extinsă. Până la identificarea unei proteine imunogene comune tulpinilor EPEC, vaccinurile autogene pot umple golul lăsat de spectrul limitat al vaccinurilor disponibile în comerț. S-a demonstrat

că autovaccinul (de tip bacterină) are o siguranță și o capacitate bune de a proteja viței provocată

- în patologia respiratorie suină s-a constatat prezența tulpinilor bacteriene multirezistente și rezistența la penicilină, oxitetraciclină, enrofloxacină, această rezistență fiind consecința administrării excesive de antibiotice în fermele de porci.

- la testarea comportamentului salmonelelor la substanțele antimicrobiene s-a observat fenomenul de rezistență multiplă la toate cele 14 tulpini testate; dintre substanțele antimicrobiene, cele mai bune rezultate au fost înregistrate la cefalosporine și florfenicol, antibiotice în general evitate datorită costurilor, iar cele mai puțin eficiente au fost antibioticele utilizate frecvent în fermele de porci în tratamentul diverselor afecțiuni (ampicilină, neomicină, lincomicină, gentamicină).

- rezultatele obținute evidențiază prezența *Streptococcus spp.* atipice în efectivele de porci, care pot reprezenta un risc ridicat și subestimat pentru sănătatea porcilor, dar și a oamenilor și ar trebui să fie identificate corect prin metode de diagnostic veterinar mai complexe și mai sensibile (MALDI-TOF MS). Considerăm că studii suplimentare pe scară largă ar trebui să investigheze impactul SDSE și al *S. porcinius* asupra patogenezei tulburărilor de reproducere la scroafe, în special.

- aproape jumătate din tulpinile izolate au prezentat rezistență la patru sau mai multe grupe de antibiotice.

A doua secțiune oferă informații despre capacitatea candidatului de a îndruma studenți și tineri cercetători. De-a lungul celor 23 ani de carieră didactică universitară această competență s-a concretizat prin coordonarea și finalizarea a 63 de lucrări de licență/disertație, și încă 24 lucrări la care am participat alături de alți colegi din disciplină. Dintre studenții coordonați de mine, 8 studenți au fost de la secția engleză.

În perioada 2008-2014 în calitate de decan de an, am fost preocupată să familiarizez studenții cu profesia de medic veterinar, cu cerințele și provocările de pe piața muncii.

În perioada 2008-2012 am coordonat activitatea unor doctoranzi în laboratoarele Disciplinei de Boli infecțioase, sprijinindu-i în interpretarea unor rezultate sau în dobândirea experienței în tehnici noi de diagnostic (imunofluorescență, ELISA).

Pe parcursul celor 11 ani când am fost responsabil ERASMUS+ al Facultății de Medicină Veterinară, am avut o strânsă legătură cu studenții, discutând cu aceștia despre avantajele participării la acest program de mobilități internaționale. Pe lângă activitatea de preluare cereri, analiza lor, am menținut legătura cu responsabilii ERASMUS+ ai facultăților partenere, și am coordonat studenții străini veniți la Facultatea de Medicină Veterinară pentru studiu sau practică, acordându-le suportul necesar pentru acomodarea în facultatea noastră și să se familiarizeze cu disciplinele, sălile de curs și de lucrări practice, cu modul de examinare. În această activitate am coordonat și susținut mai mult de 200 de studenți români și 30 de studenți și doctoranzi străini (Spania, Turcia, Serbia, Federația Rusă, Nigeria, Kenya, Congo, Kazahstan, Azerbaidjan).

Secțiunea a treia intitulată "Competențele didactice ale candidatului" descrie calitățile de cadru didactic ale candidatului, bazate pe competențe fundamentale, transversale și profesionale, dobândite prin absolvirea programelor de formare psihopedagogică pentru nivelul I și II și concretizate prin elaborarea a cinci cursuri și materiale pentru laborator pentru studenții români și studenții de la grupa engleză.

Tot la acest capitol trebuie menționată implicarea mea în proiecte POSDRUP destinate îmbunătățirii calității învățământului superior, derulate în parteneriat cu Ministerul Educației sau cu alte universități din țară

În a patra secțiune sunt prezentate capacitățile candidatului de a transfera cunoștințele

și rezultatele sale către mediul economic sau social, ori de a populariza propriile rezultate științifice. Aceste aspecte sunt reflectate de participarea candidatului la manifestări științifice în țară și în străinătate soldate cu dezbaterile concluziilor studiilor cu specialiști în boli infecțioase, patologii suină, epidemiologi, medici veterinari, fermieri sau proprietari ale animalelor de companie; de publicarea de articole în reviste de popularizare; de premiarea calității rezultatelor cercetării științifice de către instituții de stat (UEFISCDI) și prin susținerea către candidat în cadrul programului de educație și dezvoltare profesională continuă pentru medicii veterinari practicieni.

În secțiunea cinci sunt menționate capacitățile candidatului de a lucra în echipă și eficiența colaborărilor științifice ale acestuia, reflectate de către contractele de cercetare științifică sau de prestări servicii la care a participat, atât în calitate de director (n=3), cât și de membru în colectiv (n=6) și de cele peste 200 de lucrări științifice publicate împreună cu colegii.

În secțiunea șase se fac referiri la capacitatea candidatului de a conduce proiecte de cercetare – dezvoltare. Aceste competențe sunt dovedite de câștigarea și coordonarea a trei granturi/proiecte de cercetare în calitate de director, cât și prin efortul și munca prestată în cadrul depunerii unor granturi în competițiile naționale prin colaborare interdisciplinară.

Secțiunea șapte oferă informații despre experiența profesională a candidatului în alte instituții decât instituția care a scos postul la concurs și se rezumă la șase participări la diferite stagii, cursuri sau workshopuri de specializare, în diferite instituții în țară și dincolo de granițe.

**Partea C** prezintă perspectiva dezvoltării carierei universitare de către candidat care urmărește o evoluție profesională, sustenabilă și de viitor, constând în dezvoltarea continuă de abilități și noi competențe, în completarea celor existente, în conformitate cu domeniul de formare. În acest sens, în viitor, o creștere reală a vizibilității și recunoașterii naționale, dar mai ales internaționale, se va baza pe atingerea a două obiective majore: aprofundarea și dezvoltarea activității didactice și extinderea domeniilor de expertiză.

La îndeplinirea primului obiectiv vor contribui: dezvoltarea și îmbunătățirea conținutului curricular al disciplinelor la care sunt titular, motivarea profesională a studenților și acordarea unei mari atenții desfășurării activităților practice în producție, perfecționarea competențelor lingvistice, elaborarea de capitole de cărți în colective editoriale din străinătate, accesarea programelor de mobilități în alte centre universitare, prin burse de studii ERASMUS, menținerea prestigiului disciplinei prin cooperarea eficientă cu alte discipline, mediul academic și privat.

Dezvoltarea activității de cercetare se va baza pe: îmbunătățirea relațiilor de colaborare cu cercetători din cadrul facultăților de profil din țară sau colective de cercetare de dincolo de granițe; participarea, prin depuneri de proiecte de cercetare, la competiții naționale și internaționale, identificarea de surse de finanțare pentru cercetare din rândul mediului privat; motivarea, atragerea și implicarea tinerilor cercetători în activitatea de cercetare a cercului științific al disciplinei, înregistrarea de brevete, ca indicator important al cercetării științifice aplicative; efectuarea de stagii de specializare/perfecționare în străinătate; prezentarea rezultatelor cercetării la congrese și/sau conferințe internaționale și stabilirea de noi relații de colaborare.

În **partea D** sunt trecute referințele bibliografice asociate conținutului primei secțiuni ai primei părți.

## PART A. SUMMARY OF THESIS

The habilitation thesis, entitled **The phenomenon of antibiotic resistance in various infectious pathologies in farm animals** is structured in four main parts:

**The A part** summarizes the habilitation thesis.

**The B part** structured in seven sections, presents the most important scientific and professional achievements of the candidate after the completion of the PhD thesis. The relevance, originality, and impact of the scientific results are presented at the beginning. After a brief review of the evolution of the professional and didactic activity, as well as of the publishing activity, the scientific achievements are described, focusing on two major directions, namely: (a) isolation and genotypic and phenotypic identification of bacteria involved in various pathologies in farm animals and production of autovaccine as a complementary preventive measure and (b) determination of the antibiotic behavior of the isolated strains, with the highlighting of MDR strains and identified resistance pathotypes.

The main scientific achievements, presented in the context of the current state of knowledge and research in the field, were the following:

- Clinical and subclinical mastitis cases were identified in all the farms surveyed. Still, subclinical mastitis was present in 90% of the samples collected, clinical mastitis being in a much lower proportion. Bacteria identified from clinical mastitis were staphylococci (11.20%), streptococci (9.48%), *E. coli* (8.62%), *Corynebacterium* spp, and enterococci were isolated in a higher proportion than from clinical mastitis (6.02% and 6.90%). 5 strains of *Enterobacter* spp were also isolated from subclinical mastitis.

- All 39 isolates from the studied mastitis cases, belonging to several bacterial genera, were resistant to at least three antimicrobial agents. The phenomenon of resistance manifested against several antibiotics, such as erythromycin, amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin, tetracycline, and gentamicin—antibiotics that are commonly used in the treatment of mastitis in cows.

- The determination of the pathotype of a strain is important for the knowledge of its associated clinical syndromes in the host species of interest and for the adequacy of biosecurity and/or subsequent metaphylaxis/prophylaxis measures. Results obtained from the genotypic identification study of *E. coli* strains from cows, some of the strains fall into the atypical EPEC (enteropathogenic) / STEC (shigatotoxigenic) / EIEC (enteroinvasive) pathotype, characterized by the presence of genes encoding for attachment to the enterocyte (*eaeA*) and subsequent invasion of the organism (*ompA*, *fimH*), some of them also having the gene encoding complement resistance (*iss*) and the gene encoding type II verotoxin, specific to strains of human, bovine and swine origin, which probably explains the septicemic syndrome.

- All strains tested showed resistance to more than two antimicrobials and were sensitive only to ceftiofur. Three strains showed multiple resistance to florfenicol, enroxil, colistin and ampicillin-sulbactam and one strain showed resistance to enroxil, neomycin and colistin. Two resistance pathotypes were identified in this study: FFC;ENR;N;COL and ENR;N;COL.

- Different virulence genes and their different combinations may be present in different EPEC strains. This may explain why widespread heterologous protection is difficult to achieve. Until an immunogenic protein common to EPEC strains is identified, autogenic vaccines may

fill the gap left by the limited spectrum of commercially available vaccines. Autovaccine (bacterin type) has been shown to have good safety and ability to protect calves challenged.

- In swine respiratory disease, multi-drug resistant bacterial strains and resistance to penicillin, oxiteracycline, enrofloxacin have been found to occur, as a consequence of excessive antibiotic administration in pig farms.

- When testing the behavior of salmonellae to antimicrobials, multiple resistance was observed in all 14 strains tested; among the antimicrobials, the best results were recorded for cephalosporins and florfenicol, antibiotics generally avoided due to their cost, while the least effective were antibiotics frequently used in pig farms for the treatment of various diseases (ampicillin, neomycin, lincomycin, gentamicin).

- The results obtained highlight the presence of atypical *Streptococcus* spp. in pig herds, which may pose a high and underestimated risk to the health of pigs, but also to humans and should be correctly identified by more cost-effective veterinary diagnostic methods (MALDI-TOF).

- Almost half of the strains isolated showed resistance to four or more antibiotic groups.

*The second section* provides information about the candidate's ability to mentor students and young researchers. Over the 23 years of my undergraduate teaching career, this ability has materialized in the coordination and completion of 63 undergraduate/dissertation papers, and a further 24 papers in which I have participated with other colleagues in the discipline. Of the students coordinated by me, 8 students were from the English department.

From 2008-2014 as dean of year, I was concerned with familiarizing students with the veterinary profession, the requirements and challenges of the job market.

Between 2008-2012 I coordinated the work of PhD students in the laboratories of the Infectious Diseases Discipline, supporting them in interpreting results or gaining experience in new diagnostic techniques (immunofluorescence, ELISA).

During the 11 years that I was in charge of ERASMUS+ at the Faculty of Veterinary Medicine, I had a close contact with the students, discussing with them the advantages of participating in this international mobility program. In addition to taking applications, analyzing them, keeping in touch with the ERASMUS+ managers of the partner faculties, and coordinating the foreign students coming to the Faculty of Veterinary Medicine for study or practice, giving them the necessary support to settle in our faculty and to familiarize themselves with the subjects, the classrooms and practical work, with the examination procedure. In this activity we have coordinated and supported more than 200 Romanian students and 30 foreign students and PhD students (Spain, Turkey, Serbia, Russian Federation, Nigeria, Kenya, Congo, Kazakhstan, Azerbaijan).

*The third section* entitled "Candidate's teaching competences" describes the candidate's teaching qualities, based on fundamental, transversal and professional competences, acquired through the completion of psycho-pedagogical training programs for level I and II and concretized in the development of five courses and laboratory materials for Romanian students and students of the English group.

I should also mention my involvement in POSDRU projects aimed at improving the quality of higher education, carried out in partnership with the Ministry of Education or other universities in the country.

*The fourth section* presents the candidate's ability to transfer knowledge and results to the economic or social environment, or to popularize their own scientific results. These aspects are reflected by the candidate's participation in scientific events in the country and abroad resulting in the discussion of the conclusions of the studies with specialists in infectious diseases, swine pathology, epidemiologists, veterinarians, farmers or pet owners; by the publication of articles in popularizing journals; by the awarding of quality prizes for the results

of scientific research by state institutions (UEFISCDI) and by supporting the candidate in the program of continuing education and professional development for practicing veterinarians.

*Section five* mentions the candidate's teamwork skills and the effectiveness of his/her scientific collaborations, as reflected by the scientific research or service contracts in which he/she participated, both as director (n=3) and as a member of the collective (n=6) and by the more than 200 scientific papers published with colleagues.

*Section six* refers to the candidate's ability to lead R&D projects. These skills are demonstrated by winning and coordinating three research grants/projects as a director, as well as by the effort and work put into submitting grants in national competitions through interdisciplinary collaboration.

*Section seven* provides information about the candidate's professional experience in institutions other than the institution that advertised the post and is summarized in six participations in different internships, specialized courses or workshops in different institutions in the country and abroad.

**The C part** presents the candidate's perspective of academic career development aiming at a sustainable and forward-looking professional development, consisting of continuous development of skills and new competencies, complementing the existing ones, in line with the field training. In this respect, in the future, a real increase in visibility and recognition nationally, but above all especially internationally, will be based on achieving two major objectives: deepening and developing of teaching activity and broadening areas of expertise.

The following will contribute to the first objective: developing and improving the curricular content of the subjects in which they are tenured, professional motivation of students and paying great attention to the practical activities in production, enhancing linguistic competences, the elaboration of book chapters in foreign publishing groups, accessing mobility programs in other universities through ERASMUS scholarships, maintaining the prestige of the discipline through effective cooperation with other disciplines, academia and the private sector.

The development of the research activity will be based on: improving collaborative relationships with researchers within the faculties of the country's faculties or research collectives beyond participation, through the submission of research projects, in national and international competitions, the identification of sources of funding for research in the private sector; motivating, attracting and involving young researchers in the research activity of the scientific circle of the discipline, registering patents as an important indicator of applied scientific research; carrying out specialization/training periods abroad; presenting research results at international congresses and/or conferences and establishing new relationships collaboration.

The bibliographical references associated with the content of the first section of the first part are listed in the **D part**.