

Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului
“Regele Mihai I al României” din Timișoara



Facultatea de Medicină Veterinară

LUCA D. F. IASMINA

TEZĂ DE DOCTORAT

**CERCETĂRI PRIVIND PARAZITISMUL CU NEMATODE
GASTROINTESTINALE LA CARNIVORE**

Conducător Științific

Prof. dr. Emeritus dr. h.c. DĂRĂBUȘ GHEORGHE

Timișoara

2021

Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului
“Regele Mihai I al României” din Timișoara



Faculty of Veterinary Medicine

LUCA D. F. IASMINA

DOCTORAL THESIS

**RESEARCH REGARDING THE PARASITISM WITH
GASTROINTESTINAL NEMATODES IN CARNIVORES**

Conducător Științific

Prof. dr. Emeritus dr. h.c. DĂRĂBUȘ GHEORGHE

Timișoara

2021

REZUMAT

CERCETĂRI PRIVIND PARAZITISMUL CU NEMATODE GASTROINTESTINALE LA CARNIVORE

Nematodele gastrointestinale ale carnivorelor sunt frecvent întâlnite și au o distribuție largă la nivel global. Principalele specii studiate în prezenta teză sunt *Toxocara* spp. și *Ancylostoma/Uncinaria*, datorită potențialului zoonotic, dar și a frecvenței diagnosticării în rândul populației canine și feline din vestul României.

Teza conține o parte introductivă și conținutul propriu-zis. Acesta din urmă este alcătuit din stadiul actual al cunoașterii, cercetările proprii, concluziile generale și recomandările și elementele de originalitate.

Stadiul actual al cunoașterii este alcătuit din **două capitole** concepute prin utilizarea informațiilor din diverse articole științifice, cărți de specialitate și website-uri.

Primul capitol începe cu un scurt istoric al nematodelor la animale și continuă cu prezentarea unor date etiologice și epidemiologice. Au fost incluse următoarele nematodoze gastrointestinale: ancilostomoza, uncinarioza și ascariozele carnivorelor.

În subcapitolele dedicate etiologiei ancilostomozei, uncinariozei și ascariozelor, sunt prezentate detalii morfologice caracteristice fiecărei specii, încadrarea sistematică, dar și etapele ciclurilor biologice.

În subcapitolele dedicate epidemiologiei ancilostomozei, uncinariozei și ascariozelor, sunt detaliați factorii implicați în apariția acestor nematodoze (sursele de infestație, căile de infestație și implicarea unor gazde paratenice sau vector). De asemenea este prezentată rezistența formelor parazitare (ouă, stadii larvare) la acțiunea unor factori mecanici, fizici sau chimici. Potențialul zoonotic al acestor nematode a fost evidențiat, tot în acest subcapitol.

Al doilea capitol oferă informații despre metodele chimice și biologice care pot fi utilizate în controlul nematodozelor gastrointestinale ale carnivorelor.

Unul din subcapitole este dedicat procesului de dezinfecție și prezintă principalele dezinfectante care sunt utilizate în medicina veterinară, alături de modul de acțiune și aplicabilitate.

Ultimele subcapitole descriu controlul terapeutic, dar și cel biologic, în care sunt prezentate principalele specii de fungi utilizate până în prezent în domeniul parazitologiei veterinare. Mai specific, detaliază speciile cu acțiunea ovicidă și larvicidă.

Cercetările proprii au fost cuprinse în **zece capitole**. Principalele obiective ale acestei teze au fost: stabilirea prevalenței acestor nematode cu potențial zoonotic la carnivorele cu proprietar sau fără proprietar, dar și a gradului de contaminare a mediului cu aceste elemente parazitare. Unele dintre speciile parazite au fost confirmate prin teste moleculare (PCR clasic). Aceste detalii sunt importante în conturarea lanțului epidemiologic. Animalele de companie (câinii și pisicile) parazitare reprezintă o sursă majoră de infestație pentru om. De asemenea, spațiile publice (parcuri, gropi cu nisip și țărcuri pentru câini) pot fi contaminate cu elemente parazitare. Solul este o altă sursă majoră de infestație pentru om.

Un alt obiectiv al tezei a fost stabilirea seroprevalenței anticorpilor anti-*Toxocara canis* în rândul populației umane. Rezultatele obținute pot fi corelate cu cele anterioare și pot ajuta medicul veterinar practician în identificarea principalilor factori care ajută la apariția sindroamelor de *larva migrans* la om. Astfel pot fi îmbunătățite metodele de prevenție.

Obiectivele finale ale tezei au urmărit investigarea eficacității unui produs administrat spot-on, în deparazitarea internă a câinilor, alături de testarea unor substanțe dezinfectante, dar și a unui oomicet, în combaterea viabilității elementelor parazitare.

De cele mai multe ori, medicii veterinari se confruntă cu situații în care proprietarii animalelor nu pot ajuta la conținerea acestora, în vederea realizării examenului clinic sau a administrării medicației specifice. Multe rase de câini sunt dificil de controlat și necesită dresaj profesional, dar proprietarii nu folosesc aceste servicii și abordează propriile reguli în creșterea animalelor lor. Astfel, administrarea topică a unor produse este benefică în practica veterinară și ajută medicul veterinar la deparazitarea internă a animalelor agresive.

Până în prezent nu se cunosc foarte multe clase de substanțe dezinfectante eficiente în domeniul parazitologiei veterinare. Dezinfecția este o etapă vitală în practica veterinară curentă, aceasta fiind aplicată la finalul fiecărei consultații sau manopere chirurgicale. Cu toate acestea, anumite dezinfectante pot avea un efect coroziv asupra diferitelor suprafețe sau chiar asupra instrumentarului medical. De asemenea, pielea animalelor poate fi sensibilă la acțiunea acestora. Astfel, a fost testată acțiunea oomicetului *Pythium oligandrum* asupra

viabilității diverselor forme parazitare. Acest fung nu a fost investigat până în prezent în combaterea paraziților la animale, ci doar la plante. Utilizarea fungilor în decontaminarea mediilor reprezintă o alternativă ecologică care poate fi utilizată în controlul diferitelor parazitoze.

În **capitolul trei** a fost investigată prevalența nematodelor gastrointestinale la carnivorele cu proprietar din Timișoara, județul Timiș. Astfel în perioada 2017-2020 au fost examinate 219 probe de fecale: 176 de probe de fecale de la câini și 43 de probe de fecale de la pisici. Au fost incluse în studiu 25 de rase de câini și trei rase de pisici. De asemenea, animalele aparțineau mai multor categorii de vârstă, respectiv: 0-6 luni, 7-12 luni, 1-3 ani și > 3 ani.

Rezultatele obținute au evidențiat o prevalență a nematodelor gastrointestinale de 35,79%, la câini și 46,51%, la pisici.

Speciile parazitare identificate la câini au fost: *Toxocara canis* (20,45%), *Ancylostoma/Uncinaria* (17,04%), *Trichocephalus vulpis* (5,68%), *Toxascaris leonina* (1,7%), *Strongyloides* spp. (1,13%), *Isospora canis* (8,52%), *Eimeria* spp. (5,11%), *Giardia* spp. (1,13%), *Angiostrongylus vasorum* (0,56%), *Capillaria* spp. (1,13%), *Taenia hydatigena* (0,56%) și *Dipylidium caninum* (1,13%).

Cele mai multe cazuri pozitive au fost înregistrate la categoriile de vârstă 1-3 ani și 0-6 luni.

Masculii au fost mai intens parazițați (43,56%; 44/101), comparativ cu femelele (25,33%; 19/75).

Cele mai multe cazuri pozitive au fost observate la rasele de câini de talie mare (41,66%; 5/12). Procente destul de ridicate au fost identificate și la rasele de talie medie (35,61%; 26/73) și mică (26,19%; 11/42). La câinii metis, prevalența endoparazitozelor a fost de 42,85% (21/49).

A fost prezent și poliparazitismul cu două, trei sau patru specii de paraziți, respectiv:

- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxocara canis* (9/176; 5,11%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Trichocephalus vulpis* (2/176; 1,13%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Angiostrongylus vasorum* (1/176; 0,56%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxascaris leonina* (1/176; 0,56%);
- *Toxocara canis* + *Giardia* spp. (1/176; 0,56%);
- *Toxocara canis* + *Trichocephalus vulpis* (1/176; 0,56%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Trichocephalus vulpis* + *Capillaria* spp. (1/176; 0,56%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Trichocephalus vulpis* + *Taenia hydatigena* + *Dipylidium caninum* (1/176; 0,56%).

Speciile parazitare identificate la pisici, au fost: *Toxocara cati* (46,51%), *Ancylostoma/Uncinaria* (4,65%), *Isospora cati* (4,65%) și *Giardia* spp. (6,97%).

Femelele au fost mai intens parazitare (54,16%; 13/24), comparativ cu masculii (36,84%; 7/19).

Cele mai multe cazuri pozitive au fost înregistrate la pisicile cu vârsta mai mică de un an. Dintre pisicile investigate, cu vârsta de peste trei ani, niciuna nu a fost parazițată intern.

Poliparazitismul a fost prezent în proporție de 4,65%, fiind observate asocieri între două sau trei specii parazitare:

- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxocara cati* (1/43; 2,32%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxocara cati* + *Isospora cati* (1/43; 2,32%).

Cel de-al patrulea capitol a urmărit stabilirea prevalenței nematodelor gastrointestinale la câinii fără proprietar, din două adăposturi din Timișoara, județul Timiș. Astfel, în perioada 2017-2020 au fost examinate 223 de probe de fecale: n=103 - adăpostul A și n=120 - adăpostul B.

Prevalența parazitismului cu nematode gastrointestinale, în cele două adăposturi a fost 65,47% (100% - adăpostul A și 35,83% - adăpostul B).

Au fost identificate mai multe specii parazitare, respectiv *Ancylostoma/Uncinaria* (54,7%), ascarizi precum *Toxascaris leonina* (16,14%) și *Toxocara canis* (11,65%), dar și *Trichocephalus vulpis* (13,9%).

Au fost prezente 49,51% (51/103) de cazuri cu poliparazitism, în adăpostul A și 5,83% (7/120) în adăpostul B, cu asocieri între două, trei sau chiar patru specii de nematode gastrointestinale.

În adăpostul A au fost observate următoarele specii:

- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxocara canis* (10/103; 9,7%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxascaris leonina* (23/103; 22,33%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Trichocephalus vulpis* (8/103; 7,76%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxocara canis* + *Toxascaris leonina* (4/103; 3,88%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxocara canis* + *Trichocephalus vulpis* (1/103; 0,97%);

- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxascaris leonina* + *Trichocephalus vulpis* (2/103; 1,94%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxocara canis* + *Toxascaris leonina* + *Trichocephalus vulpis* (3/103; 2,91%).

În adăpostul B au fost observate următoarele specii:

- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Trichocephalus vulpis* (2/120; 1,66%);
- *Toxocara canis* + *Toxascaris leonina* (1/120; 0,83%);
- *Isospora canis* + *Trichocephalus vulpis* (1/120; 0,83%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxocara canis* + *Trichocephalus vulpis* (2/120; 1,66%);
- *Isospora canis* + *Toxocara canis* + *Toxascaris leonina* (1/120; 0,83%).

În **cel de-al cincilea capitol** au fost puse în evidență speciile de nematode din familia *Ancylostomatidae*, utilizând PCR-ul clasic. Astfel, în perioada 2020-2021 au fost prelevate 180 de probe de fecale, de la câini din județele Timiș, Hunedoara și Gorj. Amplificarea propriu zisă s-a realizat prin PCR clasic și s-a bazat pe crearea mai multor copii a unei secvențe a genei ITS de mărimea a ~ 850 bp pentru *Ancylostoma* ITS region. Primerii utilizați au fost NC5 (forward 5'-GTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATT-3'), NC2 (reverse 5'-TTAGTTTCTTTTCCTCCGCT-3') și NC1 (forward 5'-ACGTCTGGTTCAGGGTTGTT-3').

Prevalența generală a nematodelor din familia *Ancylostomatidae*, obținută prin metoda flotației, a fost de 35,89% (14/39) în Timiș, 38,88% (28/72) în Gorj și 53,62% (37/69) în Hunedoara.

Au fost prelucrate doar 29 de probe prin metoda PCR. Dintre acestea, 19 au fost procesate cu succes. În 9 probe a fost identificată specia *Uncinaria stenocephala*, cu următoarele secvențe asemănătoare în GenBank: HQ262055.1, HQ262054.1 și AF194145.1.

Au fost identificate și nematode libere, precum: *Rhabditella axei*, *Rhabdias picardiae* și *Caenorhabditis portoensis*. Speciile de nematode libere observate în prezentul studiu pot fi vehiculate de diferite gazde vector (melci, amfibieni și coleoptere). Prezența acestor nematode în fecalele câinilor din adăpost, dar și în cele provenite de la câinii din gospodăriile populației sugerează o contaminare din mediu a probelor, acestea fiind recoltate de pe sol, dar și un posibil consum al gazdelor vector. În padocurile din adăpost, aceste gazde vector pot ajunge cu ușurință, iar în gospodăriile populațiilor, câinii au acces liber în grădină și pot intra în contact cu acestea.

În **capitolul șase** a fost investigată prezența elementelor parazitare în sol. Au fost examinate diferite parcuri publice, locuri de joacă, gropi cu nisip și țărcuri pentru câini, în diferite locații din patru orașe din vestul României: Timișoara și Lugoj (Timiș), Arad (Arad) și Reșița (Caraș-Severin).

Prevalența generală a elementelor parazitare în cele patru orașe investigate, a fost 5% în Timișoara, 4,79% în Arad, 7,09% în Lugoj și 6,25% în Reșița.

În Timișoara, au fost identificate mai multe specii de nematode gastrointestinale. În probele de fecale din parcurile publice au fost prezente speciile *Ancylostoma/Uncinaria* (5,78%), *Toxocara canis* (0,57%) și *Trichocephalus vulpis* (1,73%), iar în cele din țărcurile pentru câini, doar *Trichocephalus vulpis* (2%).

În gropile cu nisip din locurile de joacă pentru copii au fost identificate doar *Ancylostoma/Uncinaria* (2,22%). De asemenea, în probele de sol și de nisip din țărcuri, au fost prezente doar *Ancylostoma/Uncinaria*, în proporție de 2% și respectiv, 6,66%.

În parcurile publice și în probele de sol au fost observate ouă de ascarizi și de *Ancylostoma/Uncinaria*, în diferite procente:

- în probele de sol de la 10 cm: *Toxocara canis* (1,15%) și *Ancylostoma/Uncinaria* (4,04%);
- în probele de sol de la 20 de cm: *Toxocara canis* (3,46%) și *Ancylostoma/Uncinaria* (2,89%);

În Arad, prevalența elementelor parazitare în probele de fecale din parcurile publice a fost 3,31% pentru *Toxocara canis*, 2,64% pentru *Ancylostoma/Uncinaria* și 0,66% pentru *Trichocephalus vulpis*.

În probele de sol prelevate de la 10 cm și în gropile cu nisip din locurile de joacă a fost identificată doar *Toxocara canis*, în proporție de 2,64% și respectiv, 3,03%. În sol, la 20 de cm au fost prezente *Toxocara canis* (1,98%) și *Ancylostoma/Uncinaria* (0,66%).

În Lugoj, în probele de fecale au fost identificate doar *Ancylostoma/Uncinaria* (2%). *Toxocara canis* (6%), *Ancylostoma/Uncinaria* (2%) și *Trichocephalus vulpis* (2%) au fost prezente în probele de sol prelevate de la 10 cm și *Ancylostoma/Uncinaria* (4%) și *Toxocara canis* (6%), în cele prelevate de la 20 de cm.

Nu au fost identificate elemente parazitare în probele de nisip prelevate.

În Reșița au fost identificate doar ouă de *Toxocara canis*, în următoarele proporții: 6,25% în probele de fecale din parcurile publice, 1,25% în probele de sol de la 10 cm și în cele de la 20 de cm. Cea mai ridicată prevalență, respectiv 27,27% a fost înregistrată în probele de fecale din țărcurile pentru câini.

Nu au fost identificate elemente parazitare în probele de sol și nisip din țărcurile pentru câini.

În **capitolul șapte** a fost evaluată seroprevalența anticorpilor anti-*Toxocara canis*, la populația umană din municipiul Timișoara (Timiș). Așadar, în perioada 2017-2020 au fost examinate 371 de probe de sânge, provenite de la oameni din 37 de cartiere din Timișoara. Din totalul de indivizi umani examinați, 237 au fost de sex feminin și 134 de sex masculin. De asemenea, 215 persoane au fost îndrumate de către medicul specialist și au avut trimitere pentru efectuarea analizelor și 156 de indivizi au solicitat aceste analize din propria inițiativă.

Au fost incluse în studiu mai multe categorii de vârstă: copii 0-14 ani (n=108), tineri 15-24 ani (n=33), adulți 25-64 ani (n=197) și seniori > 65 ani (n=33).

Prevalența toxocarozii la populația umană din municipiul Timișoara (Timiș) a fost 22,64%. Au fost identificate probe pozitive în 23 de cartiere, din totalul de 37, cele mai multe dintre aceste probe fiind în zona Calea Șagului (13/84; 15,47%). Cea mai mică prevalență (1,19%) a fost înregistrată în cartierele: Calea Sever Bocu, Ciarda Roșie, Crișan, Pădurea Verde și Tipografilor.

Prevalența toxocarozii umane, în funcție de sex a fost de 23,20% (55/237) la femei și 21,64% (29/134) la bărbați, rezultatele fiind apropiate.

Cea mai afectată a fost categoria de vârstă > 65 de ani cu o seroprevalență de 39,39%, urmată de categoriile 25-64 de ani (28,93%), 15-24 ani (18,18%) și 0-14 ani (7,4%).

În **capitolul opt** a fost testată eficacitatea selamectinei, administrată spot-on, în deparazitarea câinilor infestați cu *Toxocara canis* și *Toxascaris leonina*.

Studiul a fost realizat în perioada noiembrie 2017 - octombrie 2019. A fost utilizat un lot de 150 de câini, 67 femele și 83 masculi, cu vârsta cuprinsă între 2-32 de luni.

Produsul utilizat a fost Stronghold® (Zoetis), care conține selamectină. Au fost aplicate două administrări, la interval de o lună între acestea.

Eficacitatea produsului a fost ridicată împotriva adulților de *Toxocara canis* și *Toxascaris leonina* (80,44% și respectiv 77,71% - după prima administrare; 100% împotriva ambelor specii de ascarizi - după două administrări).

În **capitolul nouă** a fost investigat efectul dezinfectantelor pe bază de amoniu cuaternar, propanol și etanol asupra viabilității ouălor de *Toxocara* spp.

Astfel au fost utilizate patru dezinfectante, cu următoarele denumiri comerciale: Kohrsolin FF®, Terralin protect®, Trioton rapid AF® și Bacillol®.

Primul dezinfectant, Kohrsolin FF®, conține o combinație sinergică de săruri glutarale și cuaternare de amoniu și a fost preparat în concentrație de 1%.

Terralin protect® este alcătuit din compuși de amoniu cuaternar, alcoolii aromatici, derivați amfilici ai glicerinei și surfactanți tensioactivi neionici. Acesta a fost utilizat în concentrație de 2%.

Trioton rapid AF® conține compuși de amoniu cuaternar și amine, concentrația folosită fiind cea de 0,25%.

Ultimul dezinfectant ales, Bacillol®, conține alcoolii (propan-1-ol, propan-2-ol și etanol) și a fost preparat în concentrație de 1%.

Au fost astfel expuse la aceste dezinfectante, ouă de *Toxocara canis* și *Toxocara cati*.

Timpul de expunere utilizați au fost 15 și respectiv, 30 de min.

Efectul a fost analizat după 21 de zile de menținere a probelor, la 22-24°C. Au fost examinate microscopic 100 de ouă din fiecare probă și mai apoi clasificate în două categorii: viabile și neviabile.

Dezinfectantele au generat modificări ale morfologiei ouălor de *Toxocara canis* și *Toxocara cati*, respectiv: degenerarea peretelui, extravazarea și degranularea conținutului intern.

Cel mai pronunțat efect negativ asupra viabilității ouălor de *Toxocara* spp. l-a avut Bacillol® 1%.

Dezinfectantul Terralin protect® 2% a fost eficient doar în cazul ouălor de *Toxocara canis*.

Substanțele Kohrsolin FF® 1% și Trioton rapid AF® 0,25% au influențat negativ viabilitatea ouălor de *Toxocara* spp.

Așadar, cele patru substanțe dezinfectante utilizate au acțiune ovicidă și pot fi folosite la dezinfecția mediilor contaminate cu ouă de *Toxocara canis* și *Toxocara cati*.

În **capitolul zece** a fost testată acțiunea ovicidă a soluției 1% de pentapotasiu (Virkon® S, Dupont) împotriva ouălor de *Toxocara canis*.

Au fost preparate opt medii solide, constituite din PCA (agar pentru numărare pe placă). În probele tratate a fost încorporată soluția 1% de Virkon® S.

Ouăle de ascarizi au fost dispersate uniform pe agar, la o adâncime mai mică de 1 mm.

Eficacitatea dezinfectantului a fost apreciată după șapte zile de expunere a probelor, la o temperatură de $24 \pm 3^\circ\text{C}$.

Acesta a determinat o reducere de 76,24% a dezvoltării larvare, alături de degenerescențe ale conținutului intern și ale peretelui ouălor neembrionate, după 1-2 zile de expunere. La ouăle embrionate, soluția de pentapotasiu 1% a generat modificări structurale ale peretelui și eliberarea larvelor din interiorul ouălor.

În **capitolul unsprezece** a fost testată potențiala acțiune ovicidă a lui *Pythium oligandrum* asupra ouălor de *Toxocara canis* și *Toxocara cati*. Produsul utilizat a fost Ecosin®, care pe lângă oomicetul menționat anterior, conține și următoarele ingrediente: acid citric, bicarbonat de sodiu, sorbitol, dioxid de siliciu, *Panicum miliaceum*, PEG 6000 și carbonat de sodiu.

Ouăle de ascarizi au fost prelevate direct de la nivelul anselor uterine ale femelelor adulte și repartizate uniform în plăcuțe Petri care conțineau cinci tipuri de sol (In - lut nisipo-argilos, II - lut mediu, sm - lut nisipos mijlociu, uf - nisip lutos fin și sg - lut nisipos grosier), dar și pe medii prefabricate din bucăți de gresie.

Solurile utilizate au fost prelevate cu sonda din diferite țărcuri pentru câini. Astfel au fost create în laborator condițiile naturale din mediul extern în care pot fi regăsite aceste ouă de ascarizi.

Prin utilizarea mediilor cu gresie au fost create condițiile din adăposturile pentru câini, mai exact cele din padocuri.

Efectul soluției preparate a fost evaluat după șapte zile.

A fost utilizată concentrația indicată în prospect, dar și frecvența aplicării acesteia, indicate în cazul tratării dermatofitozelor, la câini.

Până în prezent nu a fost evaluat potențialul nematofag al oomicetului *Pythium oligandrum* și implicit, a produsului Ecosin®.

Rezultatele obținute indică faptul că produsul Ecosin®, care conține *Pythium oligandrum*, are un efect ovicid asupra ouălor de *Toxocara canis* și *Toxocara cati*.

Cele mai multe ouă neviabile au fost identificate în solurile sm și II, indiferent de specia de *Toxocara*.

Capitolul doisprezece a urmărit evidențierea acțiunii larvicide a aceluiași oomicet (*Pythium oligandrum*) asupra larvelor de *Uncinaria stenocephala*.

A fost utilizat același produs (Ecosin®), implicit și același protocol, similar cu cel din capitolul anterior. Larvele au fost obținute în urma efectuării culturilor larvare și dispersate în plăcuțe Petri.

Acțiunea produsului a fost evaluată după șapte zile.

În urma aplicării soluției, a fost observată o reducere larvară de 37,23%, în probele tratate.

Astfel, produsul Ecosin®, care conține *Pythium oligandrum*, prezintă acțiune larvicidă. Cu toate acestea, sunt necesare studii suplimentare pentru a îmbunătăți protocolul de utilizare.

Elementele de originalitate ale tezei derivă din faptul că aceasta este prima cercetare mai amplă privind parazitismul cu nematode gastrointestinale, la carnivorele din vestul României. De asemenea, prin rezultatele obținute este evidențiată situația epidemiologică a acestor nematodoze atât la câinii cu proprietar, cât și la cei fără proprietar. Astfel sunt prezentați publicului larg, factorii implicați în apariția parazitozelor la carnivore.

Un alt aspect important și original al tezei este faptul că prezintă diferențele care pot apărea, în ceea ce privește prevalența, în funcție de tipurile de adăposturi și condițiile în care sunt cazate și îngrijite animalele. Așadar este ilustrată importanța igienei și a metodelor de profilaxie care trebuie aplicate constant pentru a reduce posibilitatea infestării.

Totodată, în această teză este identificată pentru prima dată, în vestul României, specia *Uncinaria stenocephala*, utilizând PCR-ul clasic.

Tot prin utilizarea testelor moleculare, sunt identificate pentru prima dată în vestul României, trei specii de nematode libere, respectiv: *Rhabditella axei*, *Rhabdias picardiae* și *Caenorhabditis portoensis*. Astfel, este pusă în lumină încă o dată intervenția gazdelor vector în transmiterea diferitelor endoparazitoze.

Teza cuprinde și un studiu mai amplu, efectuat pe mai multe județe, pentru a vedea situația contaminării și potențialul zoonotic al spațiilor verzi. De asemenea, a fost investigată prevalența sindroamelor de *larva migrans* în rândul populației umane, pe o perioadă mai lungă de timp. Rezultatele înregistrate sunt originale prin faptul că prezintă situația concretă a infecțiilor în rândul populației umane și oferă informații cu privire la potențialele zone/areale/cartiere care pot fi periculoase. Astfel, autoritățile locale, dar și populația umană, pot aplica măsuri suplimentare de profilaxie și combatere.

Totodată, prin rezultatele obținute este realizată prima raportare, la nivel național, a eficacității selamectinei, administrată spot-on, în deparazitarea internă a câinilor infestați cu ascarizi.

Dezinfectantele testate în prezenta teză (Kohrsolin FF®, Terralin protect®, Trioton rapid AF® și Bacillol®), nu au mai fost utilizate în alte studii internaționale, în domeniul medicinei veterinare, în special în domeniul parazitologiei, acest aspect conferind originalitate. Soluția 1% de pentapotasiu (Virkon® S) nu a mai fost utilizată împotriva ouălor de *Toxocara canis*, în prezenta teză fiind efectuată prima raportare a efectului ovidic. Rezultatele obținute au un grad ridicat de semnificație pentru practica veterinară. S-a demonstrat că aceste dezinfectante sunt utile și pot fi aplicate pe diferite suprafețe din cabinetele și clinicile veterinare, dar și în padocurile pentru câinii din adăposturi. Astfel este diminuată posibilitatea infestării cu elemente parazitare din mediu, atât a animalelor, cât și a personalului angajat și a proprietarilor.

De asemenea, a fost testat pentru prima dată la nivel internațional, produsul Ecosin®, care conține oomicetul *Pythium oligandrum*, în controlul biologic al unor parazitoze. A fost, astfel, evidențiată acțiunea ovidică și larvicidă a unui fung nou, care a fost utilizat, până în prezent, doar în combaterea unor dermatofitoze. Rezultatele înregistrate sunt originale și sugerează posibilitatea aplicării produsului Ecosin®, în decontaminarea solului din țărcurile pentru câini, dar și a suprafețelor și padocurilor. Așadar, medicii veterinari practicieni pot aborda o metodă ecologică, în controlul unor parazitoze.

Se sugerează continuarea cercetărilor privind acțiunea și protocolul de utilizare a lui *Pythium oligandrum* în combaterea biologică.

ABSTRACT

RESEARCH REGARDING THE PARASITISM WITH GASTROINTESTINAL NEMATODES IN CARNIVORES

The gastrointestinal nematodes of carnivores are common and are widely distributed. The main species studied in this thesis are *Toxocara* spp. and *Ancylostoma/Uncinaria*, due to the zoonotic potential, but also to the frequency of diagnosis among the canine and feline population in western Romania.

The thesis is structured into an introduction and the main body of the thesis. The latter presents the current state of knowledge, the personal research, the general conclusions and recommendations and the elements of originality.

The current state of knowledge has **two chapters** based on information from various scientific articles, books and websites.

The first chapter begins with a brief history of nematodes found in animals and continues with etiological and epidemiological data. The following gastrointestinal nematodes were included: hookworms and ascarids.

The subchapters dedicated to the etiology of hookworm diseases and ascariasis present the morphological characteristics of each species, the systematic classification and the stages of biological cycles.

The subchapters dedicated to the epidemiology of hookworm diseases and ascariasis provide details regarding the factors involved in the occurrence of these nematode infections (infection sources, pathways and the involvement of paratenic hosts or vector), along with the resistance of parasitic forms (eggs, larval stages) to mechanical, physical or chemical action. The zoonotic potential of these nematodes has also been highlighted.

The second chapter provides information regarding the chemical and biological methods that can be used for the control of gastrointestinal nematodes, in carnivores.

One of the subchapters is dedicated to the disinfection process and presents the active substances, used in veterinary medicine, along with their way of action and applicability.

The last subchapters describe the therapeutic and biological control methods, presenting the main species of fungi used so far in the field of veterinary parasitology. More specifically, it provides details about the species with ovicidal and larvicidal action.

The personal research is detailed in **ten chapters**. The main **objectives** of this thesis were to establish the prevalence of these nematodes with zoonotic potential in carnivores and to evaluate the environmental pollution with these parasitic elements. Some of the parasitic species have been confirmed through molecular testing (classical PCR). These details are important in outlining the epidemiological chain. The infested pets (dogs and cats) are a major source of human infection. Public areas (parks, sand pits and dog pens) can also be contaminated with parasitic elements. The soil is another source of human infection.

Another objective was to establish the seroprevalence of anti-*Toxocara canis* antibodies among the human population. The results obtained can be correlated with the previous ones and can help the veterinarians to identify the main factors that have led to *larva migrans* syndromes, in humans. This could improve the prevention methods.

The final objectives were to investigate the efficacy of a spot-on product for dog deworming, along with testing disinfectants and also an oomycete, in combating the viability of parasitic elements.

In most cases, veterinarians face situations in which the pet owners cannot help to contain the animal, in order to perform the clinical examination or the administration of specific medication. Many dog breeds are difficult to be controlled and require professional training, but owners do not use these services and address their own rules in raising their animals. Thus, topical administration of some products is beneficial for veterinarians in the process of deworming aggressive animals.

Currently, not many classes of disinfectants are known to be effective in the field of veterinary parasitology. Disinfection is a vital process in the current veterinary practice, being applied at the end of each consultation, surgical procedure, etc. However, certain disinfectants can have a corrosive effect on various surfaces or even on medical instruments. The animal skin may also be sensitive to their action. Thus, the action of *Pythium oligandrum* on eggs and larval viability was tested. This fungus has not been investigated so far from the point of view of animal parasite control. The use of fungi in environmental decontamination is an ecological alternative.

The third chapter deals with the investigation of the prevalence of gastrointestinal nematodes in pet carnivores from Timișoara, Timiș County. Thus, 219 faecal samples were examined in the period 2017-2020: 176 faecal samples from dogs and 43 faecal samples from cats. The study included 25 dog breeds and three cat breeds. The animals belonged to various age categories, respectively: 0-6 months, 7-12 months, 1-3 years and > 3 years.

The obtained results showed a prevalence rate of gastrointestinal nematodes of about 35.79%, in dogs and 46.51%, in cats.

The parasites identified in dogs were: *Toxocara canis* (20.45%), *Ancylostoma/Uncinaria* (17.04%), *Trichocephalus vulpis* (5.68%), *Toxascaris leonina* (1.7%), *Strongyloides* spp. (1.13%), *Isospora canis* (8.52%), *Eimeria* spp. (5.11%), *Giardia* spp. (1.13%), *Angiostrongylus vasorum* (0.56%), *Capillaria* spp. (1.13%), *Taenia hydatigena* (0.56%) and *Dipylidium caninum* (1.13%).

Most positive cases were recorded in the 1-3 years and 0-6 months age groups.

Males were more intensely parasitised (43.56%; 44/101), compared to females (25.33%; 19/75).

Most positive cases were observed in large dog breeds (41.66%; 5/12). Quite high percentages were also identified for medium-sized (35.61%; 26/73) and small (26.19%; 11/42) breeds. In mixed-breed dogs, the prevalence rate of endoparasitic diseases was 42.85% (21/49).

Polyparasitism with two, three or four species of parasites was also present, respectively:

- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxocara canis* (9/176; 5.11%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Trichocephalus vulpis* (2/176; 1.13%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Angiostrongylus vasorum* (1/176; 0.56%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxascaris leonina* (1/176; 0.56%);
- *Toxocara canis* + *Giardia* spp. (1/176; 0.56%);
- *Toxocara canis* + *Trichocephalus vulpis* (1/176; 0.56%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Trichocephalus vulpis* + *Capillaria* spp. (1/176; 0.56%)
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Trichocephalus vulpis* + *Taenia hydatigena* + *Dipylidium caninum* (1/176; 0.56%).

The parasites identified in cats were: *Toxocara cati* (46.51%), *Ancylostoma/Uncinaria* (4.65%), *Isospora cati* (4.65%) and *Giardia* spp. (6.97%).

Females were more intensely parasitised (54.16%; 13/24), compared to males (36.84%; 7/19).

The majority of positive cases were recorded in cats under one year of age. None of the cats, above three years of age, were internally parasitised.

Polyparasitism was present in 4.65% of cases. Associations between two or three parasitic species such as

- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxocara cati* (1/43; 2.32%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxocara cati* + *Isospora cati* (1/43; 2.32%) were observed.

The fourth chapter aimed to establish the prevalence of gastrointestinal nematodes in dogs from two shelters in Timișoara, Timiș County. Thus, 223 faecal samples were examined in the period 2017-2020: n = 103 - from shelter A and n = 120 - from shelter B.

The prevalence of parasitism with gastrointestinal nematodes was 65.47%, in shelter dogs (100% - in shelter A and 35.83% - in shelter B).

Several parasites were identified, namely *Ancylostoma/Uncinaria* (54.7%), roundworms such as *Toxascaris leonina* (16.14%) *Toxocara canis* (11.65%), and *Trichocephalus vulpis* (13.9%).

There were 49.51% (51/103) cases of polyparasitism in shelter A and 5.83% (7/120) in shelter B, with associations between two, three or even four species of gastrointestinal nematodes.

The following species were observed in shelter A:

- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxocara canis* (10/103; 9.7%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxascaris leonina* (23/103; 22.33%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Trichocephalus vulpis* (8/103; 7.76%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxocara canis* + *Toxascaris leonina* (4/103; 3.88%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxocara canis* + *Trichocephalus vulpis* (1/103; 0.97%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxascaris leonina* + *Trichocephalus vulpis* (2/103; 1.94%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxocara canis* + *Toxascaris leonina* + *Trichocephalus vulpis* (3/103; 2.91%).

The following species were observed in shelter B:

- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Trichocephalus vulpis* (2/120; 1.66%);
- *Toxocara canis* + *Toxascaris leonina* (1/120; 0.83%);

- *Isospora canis* + *Trichocephalus vulpis* (1/120; 0.83%);
- *Ancylostoma/Uncinaria* + *Toxocara canis* + *Trichocephalus vulpis* (2/120; 1.66%);
- *Isospora canis* + *Toxocara canis* + *Toxascaris leonina* (1/120; 0.83%).

The fifth chapter highlights nematode species from the *Ancylostomatidae* family using classical PCR. Thus, in the period 2020-2021, 180 faecal samples were collected from dogs from Timiș, Hunedoara and Gorj counties. The actual amplification was performed by classical PCR and was based on creating several copies of an ITS gene sequence of 850 bp for *Ancylostoma* ITS region. NC5 (forward 5'-GTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATT-3'), NC2 (reverse 5'-TTAGTTTCTTTTCCTCCGCT-3') and NC1 (forward 5'-ACGTCTGGTTCAGGGTTGTT-3') were the utilised primers.

The general prevalence of nematodes from the *Ancylostomatidae* family, determined using the flotation method, was 35.89% (14/39) in Timiș, 38.88% (28/72) in Gorj and 53.62% (37/69) in Hunedoara.

Only 29 samples were submitted for further processing (PCR method). A total of 19 samples were successfully processed. *Uncinaria stenocephala* was identified in 9 samples, with the following similar sequences in GenBank: HQ262055.1, HQ262054.1 and AF194145.1.

Free nematodes, such as *Rhabditella axei*, *Rhabdias picardiae* and *Caenorhabditis portoensis*, have also been identified. These nematodes can be carried by different vectors (snails, amphibians and beetles) and their presence in the dog faeces suggests a possible environmental contamination of samples or a possible consumption of vector hosts. These vectors can easily reach the animals in both shelters and households where dogs have free access into the garden.

In chapter six, the presence of parasitic elements in soil, was investigated. Different public parks, playgrounds, sand pits and dog pens from four cities of western Romania were examined, namely: Timișoara (Timiș), Lugoj (Timiș), Arad (Arad) and Reșița (Caraș-Severin).

The general prevalence rate of parasitic elements in the four investigated cities was 5% in Timișoara, 4.79% in Arad, 7.09% in Lugoj and 6.25% in Reșița.

In Timișoara, several species of gastrointestinal nematodes have been identified. *Ancylostoma/Uncinaria* (5.78%), *Toxocara canis* (0.57%) and *Trichocephalus vulpis* (1.73%) were present in faeces from public parks. In the faeces samples from dog pens on the other hand, only *Trichocephalus vulpis* (2%) was observed.

Ancylostoma/Uncinaria (2.22%) was identified in sand pits from children playgrounds. Only *Ancylostoma/Uncinaria* (2% and 6.66%, respectively) was present in soil and sand samples from dog pens.

Different percentages of nematodes were observed in soil samples from public parks:

- in the soil samples collected from a 10 cm distance from the faecal samples: *Toxocara canis* (1.15%) and *Ancylostoma/Uncinaria* (4.04%);

- in the soil samples collected from a 20 cm distance from the faecal samples: *Toxocara canis* (3.46%) and *Ancylostoma/Uncinaria* (2.89%);

In Arad, the prevalence rate of parasitic elements in fecal samples from public parks was 3.31% for *Toxocara canis*, 2.64% for *Ancylostoma/Uncinaria* and 0.66% for *Trichocephalus vulpis*.

Only *Toxocara canis* was identified, in proportion of 2.64% and 3.03%, respectively in soil samples taken from 10 cm distance from the faecal samples from playground sand pits. *Toxocara canis* (1.98%) and *Ancylostoma/Uncinaria* (0.66%) were present in soil samples collected at 20 cm distance.

In Lugoj, only *Ancylostoma/Uncinaria* (2%) was identified in the faecal samples. *Toxocara canis* (6%), *Ancylostoma/Uncinaria* (2%) and *Trichocephalus vulpis* (2%) were present in the soil samples taken from 10 cm distance and *Ancylostoma/Uncinaria* (4%) and *Toxocara canis* (6%) in those taken from 20 cm distance.

None of the parasitic elements were identified in sand samples.

In Reșița, only *Toxocara canis* eggs were identified, in the following proportions: 6.25% in faeces from public parks, 1.25% in soil samples from 10 and 20 cm distance. The highest prevalence rate, 27.27%, was recorded for the faecal samples from dog pens.

In soil and sand samples from dog pens, none of the parasitic elements were identified.

In chapter seven, the seroprevalence of anti-*Toxocara canis* antibodies was evaluated in the human population from Timișoara (Timiș). Therefore, in the period 2017-2020, 371 blood samples were examined, coming from people living in 37 neighborhoods. According to gender, 237 were women and 134 were men, 215 people were had a referral to perform the tests and 156 individuals requested these tests without professional referral.

Several age categories were included in the study: children 0-14 years (n=108), young people 15-24 years (n=33), adults 25-64 years (n=197) and seniors > 65 years (n=33).

The prevalence of human toxocarosis in Timișoara (Timiș) was 22.64%. Positive samples were identified in 23 neighborhoods out of 37, most of these samples being in Calea Șagului area (13/84; 15.47%). The lowest prevalence (1.19%) was registered in the following neighborhoods: Calea Sever Bocu, Ciarda Roșie, Crișan, Pădurea Verde and Tipografilor.

The prevalence of human toxocarosis was 23.20% (55/237) in women and 21.64% (29/134) in men.

The > 65 years age category was the most affected, with a seroprevalence of 39.39%, followed by 25-64 years (28.93%), 15-24 years (18.18 %) and 0-14 years (7.4%) categories.

In chapter eight, the efficacy of spot-on selamectin in deworming dogs infected with *Toxocara canis* and *Toxascaris leonina*, was tested.

The study was conducted between November 2017 and October 2019. A group of 150 dogs, 67 females and 83 males, aged 2-32 months was included in the study.

The chosen product was Stronghold® (Zoetis), containing selamectin. Two administrations were applied, one month apart.

The product efficacy was high against *Toxocara canis* and *Toxascaris leonina* adults (80.44% and 77.71%, respectively - after one administration; 100% against both roundworms - after two administrations).

Chapter nine investigated the effect of disinfectants based on quaternary ammonium, propanol and ethanol on *Toxocara* spp. viability.

Thus, four disinfectants were used, with the following trade names: Kohrsolin FF®, Terralin protect®, Trioton rapid AF® and Bacillol®.

The first disinfectant, Kohrsolin FF®, contains a synergistic combination of glutarate and quaternary ammonium salts and was prepared in 1% concentration.

Terralin protect® consists of quaternary ammonium compounds, aromatic alcohols, amphiphilic glycerin derivatives and nonionic surfactants. It was used in 2% concentration.

Trioton rapid AF® contains quaternary ammonium compounds and amines, the concentration used being 0.25%.

The last disinfectant, Bacillol®, contains alcohols (propan-1-ol, propan-2-ol and ethanol) and was prepared in 1% concentration.

Toxocara canis and *Toxocara cati* eggs were exposed to these disinfectants.

The time exposure periods were 15 and 30 minutes, respectively.

The effect was analyzed after 21 days of sample storage at 22-24°C. A total of 100 eggs from each sample were microscopically examined and then classified in two categories: viable and non-viable.

The disinfectants generated changes in the morphology of *Toxocara canis* and *Toxocara cati* eggs, respectively: wall degeneration, extravasation and internal content degranulation.

Bacillol® 1% had the most pronounced negative effect on the viability of *Toxocara* spp. eggs.

Terralin protect® 2% was only effective against the *Toxocara canis* eggs.

Kohrsolin FF® 1% and Trioton rapid AF® 0.25% negatively influenced the viability of *Toxocara* spp.

Therefore, the four disinfectants have ovicidal action and can be used to disinfect the environments contaminated with *Toxocara* spp. eggs.

In chapter ten, the ovicidal action of 1% pentapotassium solution (Virkon® S, Dupont) against *Toxocara canis* eggs was tested.

Eight solid PCA (plate counting agar) media were prepared,. consisting of 1% Virkon® S solution was incorporated in treated samples. Then, ascarid eggs were dispersed on agar, to a depth less than 1 mm.

The disinfectant efficacy was assessed after seven days of exposure at 24±3°C.

The study resulted with a 76.24% reduction in larval development, along with internal content and wall degeneration in non-embryonated eggs, after 1-2 days of exposure. In embryonated eggs, the 1% pentapotassium solution generated structural changes of wall and the release of larvae from eggs interior.

In chapter eleven, the potential ovicidal action of *Pythium oligandrum* against *Toxocara canis* and *Toxocara cati* eggs was tested. The Ecosin® product was used, which contains the oomycete mentioned above and also, citric acid, baking soda, sorbitol, silicon dioxide, *Panicum miliaceum*, PEG 6000 and sodium carbonate.

The ascarid eggs were taken directly from the uterine loops of adult females and then distributed in Petri dishes, containing five types of soil (In - sandy - clay, II - medium clay, sm - medium sandy clay, uf - fine clayey

sand and sg - coarse sandy clay), but also on prefabricated sandstone plates.

The soil samples were collected from various dog pens, consequently natural conditions from the external environment in which these roundworm eggs can be found, had to be replicated in the laboratory. The sandstone plates were similar with those found in the paddocks from the dog shelters.

The effect of the prepared solution was evaluated after seven days.

The concentration, but also the frequency of its application suggested in dog dermatophytosis treatment, were chosen according to instructions given by the manufacturer.

So far, the nematophagous potential of *Pythium oligandrum* and, implicitly, of Ecosin®, has not yet been evaluated.

The results obtained indicate that the Ecosin® product, which contains *Pythium oligandrum*, has an ovicidal effect on *Toxocara canis* and *Toxocara cati* eggs.

Most non-viable eggs have been identified in sm and ll soils.

Chapter twelve aimed to highlight the larvicidal action of the same oomycete (*Pythium oligandrum*) on *Uncinaria stenocephala* larvae.

The same product (Ecosin®) was used, implicitly the same protocol, similar to the one in the previous chapter. Larvae were obtained from larval cultures and dispersed in Petri dishes.

The action of the product was evaluated after seven days.

A larval decrease of 37.23% was observed in treated samples following the application of the solution.

Thus, the Ecosin® product, which contains *Pythium oligandrum*, has a larvicidal action. However, further studies are needed to improve the protocol of usage.

The elements of originality in the present thesis derive from the fact that this is the first extensive research regarding the parasitism with gastrointestinal nematodes, in carnivores from western Romania. Also, the obtained results highlight the epidemiological situation of these nematodes in pet carnivores or shelter animals. Thus, the factors involved in the occurrence of carnivore parasitic diseases are made more accessible to anyone wishing to be informed on this matter.

Another important and original aspect of the thesis is the fact that it presents the differences that can appear in terms of prevalence, according to shelter type and conditions of animal housing. Therefore, the importance of hygiene and prophylaxis methods that must be applied constantly to reduce the possibility of infestation, are illustrated once again.

At the same time, *Uncinaria stenocephala* is identified for the first time in western Romania, using classical PCR, in this thesis.

Three free nematode species were identified for the first time in western Romania using molecular tests: *Rhabditella axei*, *Rhabdias picardiae* and *Caenorhabditis portoensis*. Thus, the intervention of vector hosts in the transmission of various endoparasitic diseases is highlighted once again.

The thesis also includes a larger study, conducted in several counties, to see the situation of contamination and the zoonotic potential of green public areas. The prevalence of *larva migrans* syndromes among the human population over a longer period of time was also investigated. The obtained results are original and offer a view on the concrete situation of human infection and also provide information about potential areas/neighborhoods that can be dangerous. Thus, local authorities, but also the human population, can apply additional measures of prophylaxis and control.

At the same time, the results obtained make the first report, at national level, regarding the efficacy of spot-on selamectin in deworming of roundworm infested dogs.

The disinfectants tested in this thesis (Kohrsolin FF®, Terralin protect®, Trioton rapid AF® and Bacillol®), have not been used in other international studies in the field of veterinary medicine, especially parasitology, this aspect conferring originality. The 1% pentapotassium solution (Virkon® S) was never before used against *Toxocara canis* eggs, the first reporting of the ovicidal action being made in this thesis. The results are highly significant for the veterinary practice. It has been shown that these disinfectants are useful and can be applied on various surfaces in veterinary clinics but also in shelter paddocks. This reduces the possibility of environmental infestation with parasitic elements of animals, employees and owners.

The Ecosin® product, which contains the *Pythium oligandrum* oomycete, has also been tested internationally for the first time in the biological control of parasites. Thus, the ovicidal and larvicidal action of a new fungus was highlighted; fungus which has been used, until now, only in dog dermatophytosis treatment. The results are original and suggest the possibility of applying the Ecosin® product in soil decontamination of dog

pens but also in decontaminating different surfaces and paddocks. Therefore, veterinarians can approach an ecological method, in the control of some parasites.

Further research regarding the action and the protocol for *Pythium oligandrum* use in biological control, is suggested.