

RÉSUMÉ

ÉTUDE ÉPIDÉMIOLOGIQUE SUR LES ESPÈCES DE *TRICHINELLA* *BRITTOVI*, *T. PSEUDOSPIRALIS* ET *T. SPIRALIS* CIRCULANT DANS LA FAUNE SAUVAGE EN ROUMANIE

Cette thèse contient :

Liste des abréviations

Résumés en français, en roumain et en anglais

Étude bibliographique	38 pages
Propre recherche	70 pages
Les tables	6
Les figures	40
Sources bibliographiques	337

La trichinellose, une zoonose qui touche les mammifères, notamment les carnivores et les omnivores, est répandue dans le monde entier et est causée par des parasites appartenant au genre *Trichinella*. *T. spiralis* est l'espèce la plus connue, le porc domestique faisant preuve d'une réceptivité maximale, suivi d'un nombre impressionnant d'hôtes domestiques et sauvages, dont l'Homme.

La thèse comprend une partie d'étude bibliographique et les travaux de recherche de la thèse. Ces derniers sont organisés selon les sections suivantes : I – l'état actuel des connaissances, II – les travaux menés lors de la thèse, III – les conclusions générales et recommandations, IV – les éléments d'originalité et V – points de vue.

La section **État actuel des connaissances** comprend deux chapitres qui contiennent des informations sur l'étiologie, l'épidémiologie et le diagnostic de la trichinellose chez l'animal et chez l'Homme, inspirés des résultats de recherches publiées dans la littérature spécialisée.

Le premier chapitre décrit les espèces du genre *Trichinella*, l'identification des sources et des méthodes d'infestation pour cette zoonose, et la prévalence du nématode en Roumanie et en Europe.

Les sous-chapitres, au nombre de deux, présentent des détails liés aux agents étiologiques (description de l'espèce de référence, *T. spiralis*, mais aussi des autres espèces impliquées dans l'étiologie de la maladie) et à l'épidémiologie complexe de la maladie, en mettant en évidence la prévalence.

Le deuxième chapitre est structuré en cinq sous-chapitres dans lesquels sont présentés des détails concernant : le diagnostic étiologique, épidémiologique, clinique, histopathologique et le diagnostic de laboratoire.

La section de recherches propres comprend deux chapitres dans lesquels sont présentés les principaux objectifs de la thèse, les matériaux et méthodes qui ont servi à la recherche, les résultats obtenus, les conclusions et les recommandations.

Le chapitre *Épidémiologie descriptive sur la trichinellose chez les carnivores sauvages et chez le sanglier*, visait à explorer les caractéristiques descriptives pertinentes de l'épidémiologie de la trichinellose, chez les animaux sauvages de plusieurs fonds de chasse, de 23 départements de Roumanie. Les objectifs spécifiques étaient : l'examen d'échantillons musculaires de ces animaux par examen trichinelloscopique et digestion artificielle ; identification microscopique des larves de *Trichinella* spp.; établir la prévalence de la trichinellose chez les animaux étudiés ; interprétation statistique des résultats obtenus.

L'étude a été réalisée au cours de la période 2020-2023 sur un nombre de 265 animaux sauvages provenant de différents fonds de chasse à partir de 23 départements de Roumanie. Pour réaliser l'étude, 112 renards (*Vulpes vulpes*), 73 chacals (*Canis aureus*), 20 sangliers (*Sus scrofa*), 17 chats sauvages (*Felis silvestris*), 14 blaireaux (*Meles meles*), 12 martres des pins (*Martes martes*), 9 loups (*Canis lupus*), 6 ours (*Ursus arctos*), 1 chien viverrin (*Nyctereutes procyonoides*), et 1 lynx (*Lynx lynx*) ont été examinés. Pour établir le diagnostic, des échantillons musculaires de chaque animal ont été examinés pour détecter la présence de larves de *Trichinella* spp., par trichinéloscopie directe et par la méthode de digestion artificielle. L'interprétation statistique des données expérimentales a été réalisée avec IBM-SPSS 20 et Excel. Des éléments statistiques descriptifs, des tableaux croisés ont été calculés et des graphiques à colonnes et des graphiques radars ont été réalisés.

Suite à l'examen direct par trichinelloscopie, des kystes contenant des larves de *Trichinella* spp. ont été identifiés chez 89/ 265 (33,58 %) des animaux sauvages examinés. Grâce à la méthode de digestion artificielle, les larves de *Trichinella* spp. ont été isolées à partir de 90/ 265 (33,96 %) hôtes sylvatiques. Les résultats de l'étude épidémiologique ont révélé les valeurs de prévalence de la trichinellose, comme suit : 23,21 % à renards, 58,90 % chez des chacals, 30,00 % chez des sangliers, 11,76 % chez des chats sauvages, 16,66 % chez des martre des pins, 88,88 % chez des loups, 16,66 % chez des ours brun, chez un chien viverrin et chez un lynx.

L'interprétation statistique des résultats des enquêtes épidémiologiques réalisées au cours de la période 2020-2023, sur un nombre de 265 animaux sauvages issus de différents fonds de chasse, provenant de 23 départements de Roumanie, dont 90 ont été diagnostiqués avec la trichinellose, révèle des différences annuelles significatives dans la prévalence de l'infestation par

le nématode zoonotique. En analysant la prévalence de la trichinellose au cours de la période étudiée (2020-2023), une tendance à la croissance annuelle peut être observée, le coefficient de corrélation linéaire de Pearson ayant la valeur $R=0,691$. La série chronologique associée suppose que la droite de régression a la valeur $y = 0,0586x - 118,05$. L'application du test Mann-Whitney U donne des différences significatives. Elles ont été observées entre les années considérées dans l'étude concernant le nombre d'infestations par *Trichinella* spp : 2020 vs 2022 ($p = 0,046 < 0,05$), 2021 vs 2022 ($p = 0,049 < 0,05$) et 2022 vs 2023 ($p = 0,046 < 0,05$).

La présente étude évoque le fait que neuf hôtes sauvages de 23 départements roumains sont infestés par le nématode *Trichinella*. L'étude réalisée sur une période de quatre ans révèle une prévalence de la trichinellose de 33,96% suite à l'examen par digestion artificielle d'échantillons musculaires prélevés sur des carnivores sauvages et des sangliers. La présente étude apporte de nouvelles informations sur la prévalence de la trichinellose chez le loup (88,88 %), le chacal (58,90 %), le renard (23,21 %), la martre des pins (16,66 %), l'ours brun (16,66 %), le chat sauvage (11,76 %), chez un chien viverrin (100 %), chez un lynx (100 %), et chez un sanglier (30 %), en Roumanie.

La présente étude rapporte pour la première fois en Roumanie l'infestation par *Trichinella* spp. chez le chien viverrin (*Nyctereutes procyonoides*) et la martre des pins (*Martes martes*). L'identification de larves de *Trichinella* spp. chez neuf hôtes de la faune sauvage de Roumanie souligne sans aucun doute leur rôle de vecteur pour le nématode zoonotique, mais aussi leur position d'élément de transit entre l'écosystème sauvage et l'écosystème périphérique domestique, avec le risque d'infestation humaine.

Le chapitre *Épidémiologie moléculaire des espèces de Trichinella chez les carnivores sauvages et le sanglier* est divisé en trois sous-chapitres et il décrit les espèces de nématodes zoonotiques présentes dans la faune sauvage de notre pays.

Dans le premier sous-chapitre, l'étude récente visait à explorer les caractéristiques moléculaires pertinentes de l'épidémiologie de la trichinellose, chez 83 animaux sauvages (huit hôtes) provenant de plusieurs fonds de chasse, de 21 départements de Roumanie. Les objectifs spécifiques étaient : l'examen d'échantillons musculaires de ces animaux par examen trichinelloscopique et digestion artificielle ; identification microscopique des larves de *Trichinella* spp.; caractérisation moléculaire des isolats obtenus. Pour cette étude, 242 animaux sauvages (neuf hôtes) issus de différents fonds de chasse dans 21 départements de Roumanie ont été examinés par trichinelloscopie directe et méthode de digestion artificielle, et les larves obtenues ont été analysées par PCR multiplex pour l'identification des espèces.

Grâce à la trichinoscopie directe et à la méthode de digestion artificielle, des larves de *Trichinella* spp. ont été révélées chez 26 renards, 42 chacals, un chien viverrin, huit loups, deux

chats sauvages, un lynx, deux martres des pins, et chez un ours brun. Grâce à la technique de PCR multiplex, une seule espèce du genre *Trichinella* isolée des muscles de ces animaux sauvages a été identifiée, à savoir l'espèce *T. britovi*.

La présente étude fournit des informations actuelles sur la circulation de *T. britovi* à un certain nombre de huit carnivores sauvages (loup, renard, chacal, chat sauvage, ours, chien viverrin, martre des pins, lynx) et souligne leur rôle dans la transmission du parasite, mais aussi le fait que l'espèce *T. britovi* reste en présence constante de la faune sauvage en Roumanie.

De plus, cette étude rapporte l'infestation par *T. britovi* chez le chien viverrin (*Nyctereutes procyonoides*) et la martre des pins (*Martes martes*) pour la première fois en Roumanie. L'identification de l'espèce *T. britovi* chez de nouveaux hôtes, tels que le chien viverrin et la martre des pins, souligne sans aucun doute le fait que la réserve parasitaire en milieu sylvatique est maintenue à un niveau constant, et la connaissance de ces nouveaux hôtes vecteurs est une préoccupation permanente des vétérinaires et des spécialistes de la chasse.

Le sous-chapitre suivant *Identification moléculaire de l'espèce Trichinella pseudospiralis chez le chacal* rapporte la première identification moléculaire de l'espèce *T. pseudospiralis* chez le chacal en Roumanie. Trois spécimens des chacals ont été examinés pour cette espèce. Ils proviennent du fonds de chasse Murflatar numéro 36, département de Constanța. Trente grammes de muscle de chaque spécimen ont été analysés par digestion artificielle et les larves résultantes ont été stockées dans de l'éthanol à 90 % et analysées au Laboratoire de référence pour les parasites de l'Union Européenne, « Istituto Superiore di Sanità » (ISS) (Rome, Italie) pour l'identification.

Un seul chacal a été testé positif pour la présence de larves de *Trichinella* spp. et l'espèce identifiée par PCR multiplex était *T. pseudospiralis*. La séquence ESV amplifiée (OU916274.1) a montré une identité de 100 % avec la séquence homologue obtenue à partir de larves de *T. pseudospiralis* collectées dans la région du Caucase (S82661.1). Pour la première fois en Roumanie, l'infestation par *T. pseudospiralis* chez le chacal a été rapportée.

Le dernier sous-chapitre *Identification moléculaire de l'espèce Trichinella spiralis chez le sanglier* décrit l'identification et la caractérisation moléculaire des larves de *Trichinella* isolées de la musculature de sangliers du l'est, sud-est et nord-est de la Roumanie. Pour cette étude, des échantillons musculaires de 20 sangliers (*Sus scrofa*), (14 mâles et six femelles) ont été examinés. Ces animaux provenaient de différents fonds de chasse, de six départements de Roumanie (Mehedinți, Caraș-Severin, Timiș, Hunedoara, Satu Mare et Mureș). Les échantillons musculaires ont été testés pour la présence de larves de *Trichinella* spp. par trichinoscopie directe et digestion artificielle. Par la suite, les larves de *Trichinella* spp. ont été collectées dans le liquide de digestion et analysées par PCR multiplex pour l'identification d'espèce. Sur les 20 sangliers étudiés, des larves de *Trichinella* spp. ont été isolées qu'à partir de six individus, et l'espèce identifiée était *T.*

spiralis. Le sanglier est et reste, en Roumanie, un hôte réservoir important de *T. spiralis*, et fait le lien entre le cycle domestique et sauvage, avec des répercussions réelles et graves sur la santé humaine, élément clé de l'épidémiologie de la maladie parasitaire.

Il s'agit de la première étude qui fournit des informations actuelles sur la circulation de *T. britovi* chez huit espèces de carnivores sauvages (loup, renard, chacal, chat sauvage, ours, chien viverrin, martre des pins, lynx) et souligne que *T. britovi* reste en présence constante dans la faune sauvage en Roumanie.

Cette étude rapporte, pour la première fois en Roumanie, l'infestation par *T. britovi* chez le chien viverrin (*Nyctereutes procyonoides*) et la martre des pins (*Martes martes*) et l'infestation par *T. pseudospiralis* chez le chacal (*Canis aureus*).

REZUMAT

STUDIUL EPIDEMIOLOGIC PRIVIND CIRCULAȚIA SPECIILOR *TRICHINELLA BRITОВI*, *T. PSEUDOSPIRALIS* ȘI *T. SPIRALIS* ÎN FAUNA SĂLBATICĂ ÎN ROMÂNIA

Prezenta teză conține:

Listă de abrevieri

Rezumatelile în limbile franceză, română și engleză

Studiul bibliografic 38 pagini

Cercetări proprii 70 pagini

Tabele 6

Figuri 40

Surse bibliografice 337

Trichineloză, zoonoză ce afectează mamiferele, în special carnivorele și omnivorele, este răspândită în întreaga lume și este produsă de specii ale genului *Trichinella*. *T. spiralis* este specia cea mai cunoscută, porcul domestic prezentând o receptivitate maximă, urmat de un număr impresionant de gazde domestice și sălbatice, inclusiv omul.

Teza este alcătuită dintr-un studiu bibliografic și din cercetarea propriu-zisă. Aceasta din urmă este organizată în următoarele secțiuni: I – stadiul actual al cunoașterii, II – cercetări proprii, III – concluzii generale și recomandări, IV – elemente de originalitate și V – perspective.

Secțiunea intitulată **Stadiul actual al cunoașterii** cuprinde două capitole care conțin informații despre etiologia, epidemiologia și diagnosticul trichinelozei la animale și om, inspirate din rezultatele cercetărilor publicate în literatura de specialitate.

Primul capitol descrie speciile genului *Trichinella*, identificarea surselor și modalităților de infestare în această importantă zoonoză, respectiv prevalența nematodului în România și în Europa.

Subcapitolele, în număr de două, prezintă detalii referitoare la agenții etiologici (descrierea speciei de referință, *Trichinella spiralis*, dar și a celorlate specii implicate în producerea bolii) și epidemiologia complexă a bolii cu evidențierea prevalenței.

Al doilea capitol este structurat în cinci subcapitole în care sunt prezentate detalii referitoare la: diagnosticul etiologic, epidemiologic, clinic, histopatologic și de laborator.

Secțiunea de **cercetări proprii** cuprinde două capitole în care sunt prezentate obiectivele

principale ale tezei, materialele și metodele care au slujit cercetării, rezultatele obținute, concluziile și recomandările.

Capitolul *Epidemiologie descriptivă a trichinelozei la carnivore sălbatice și la mistreț* și-a propus să exploreze caracteristicile descriptive relevante ale epidemiologiei trichinelozei, la animale sălbatice provenite din mai multe fonduri de vânătoare, din 23 de județe ale României. Obiectivele specifice au fost: examinarea probelor musculare provenite de la aceste animale prin examen trichineloscopic și prin digestie artificială; identificarea microscopică a larvelor de *Trichinella* spp.; stabilirea prevalenței trichinelozei la animalele studiate; interpretarea statistică a rezultatelor obținute.

Cercetările au fost realizate în perioada 2020-2023, pe un număr de 265 de animale sălbatice provenite din diferite fonduri de vânătoare din 23 de județe ale României. Pentru realizarea studiului au fost examinate 112 vulpi (*Vulpes vulpes*), 73 de șacali (*Canis aureus*), 20 de mistreți (*Sus scrofa*), 17 pisici sălbatice (*Felis silvestris*), 14 bursuci (*Meles meles*), 12 jderi de copac (*Martes martes*), 9 lupi (*Canis lupus*), 6 urși (*Ursus arctos*), 1 câine enot (*Nyctereutes procyonoides*), respectiv 1 râs (*Lynx lynx*). Pentru stabilirea diagnosticului, probele de musculatură de la fiecare animal au fost examinate pentru prezența larvelor de *Trichinella* spp. prin trichineloscopie directă și prin metoda digestiei artificiale. Prelucrarea statistică a datelor experimentale s-a făcut cu IBM- SPSS 20 și EXCEL. Au fost calculate elemente de statistică descriptivă, tabele cross-tab și au fost realizate grafice prin coloane, respectiv, diagrame tip radar.

În urma examenului de trichineloscopie directă s-au identificat chiști cu larve de *Trichinella* spp. la 89/265 (33,58%) animale sălbatice examinate. Prin metoda digestiei artificiale s-au izolat larve de *Trichinella* spp. la 90/265 (33,96%) gazde silvatiche. Rezultatele studiului epidemiologic au relevat valori ale prevalenței trichinelozei, după cum urmează: 23,21% la vulpi, 58,90% la șacali, 30,00% la mistreți, 11,76% la pisici sălbatice, 16,66% la jderi de copac, 88,88% la lupi, 16,66% la ursul brun, la un câine enot, respectiv la un râs.

Interpretarea statistică a rezultatele investigațiilor epidemiologice realizate în perioada 2019- 2023, pe un număr de 265 animale sălbatice provenite din diferite fonduri de vânătoare, din 23 de județe ale României, dintre care 90 au fost diagnosticate cu trichineloză, relevă diferențe anuale semnificative ale prevalenței infestării cu nematodul zoonotic. Analizând prevalența trichinelozei pe perioada luată în studiu (2020-2023), se observa o tendință de creștere anuală, coeficientul de corelație liniara Pearson avand valoarea $R=0.691$. Seria cronologică asociată admite că dreapta de regresie are valoarea $y = 0.0586x - 118.05$. Aplicand testul Mann-Whitney U au fost observate diferente semnificative intre anii considerati in studiu in ceea ce priveste numarul de infestari cu *Trichinella* spp: 2020 vs 2022 ($p=0.046<0.05$), 2021 vs 2022($p=0.049<0.05$) si 2022 vs.2023($p=0.046<0.05$).

Studiul prezent evocă faptul că nouă gazde din fauna sălbatică provenita din 23 de județe ale României sunt infestate cu nematodul *Trichinella*. Studiul realizat pe o perioadă de patru ani relevă o prevalență a trichinelozei de 33,96% în urma examinării prin digestie artificială a probelor musculare recoltate de la carnivore sălbatice și mistreț. Prezentul studiu aduce informații noi despre prevalența trichinelozei la lup (88,88%), șacal (58,90%), vulpe (23,21%), jderul de copac (16,66%), ursul brun (16,66%), pisică sălbatică (11,76%), la un câine enot (100%), la un râs (100%), respectiv, la mistreț (30%), în România.

Prezentul studiu semnalează pentru prima dată în România infestația cu *Trichinella* spp. la câinele enot și la jderul de copac. Identificarea larvelor de *Trichinella* spp. la nouă gazde din fauna sălbatică din România subliniază indubitabil rolul lor de vector al nematodului zoonotic, dar și postura de element de tranzit între ecosistemul sălbatic și cel domestic periferic, cu risc de infestare umană.

Capitolul *Epidemiologie moleculară a speciilor de Trichinella la carnivore sălbatice și la mistreț* este împărțit în trei subcapitole și descrie speciile nematodului zoonotic prezente în fauna sălbatică, în țara noastră.

În primul subcapitol, prezentul studiu și-a propus să exploreze caracteristicile moleculare relevante ale epidemiologiei trichinelozei, la 83 animale sălbatice (opt gazde) provenite din mai multe fonduri de vânătoare, din 21 județe ale României. Obiectivele specifice au fost: examinarea probelor musculare provenite de la aceste animale prin examen trichineloscopic și prin digestie artificială; identificarea microscopica a larvelor de *Trichinella* spp.; caracterizarea moleculara a izolatelor obținute. Pentru acest studiu au fost examinate 242 de animale sălbatice (nouă gazde) provenite din diferite fonduri de vânătoare din 21 de județe ale României, prin trichineloscopie directă și metoda digestiei artificiale, iar larvele obținute au fost procesate prin PCR multiplex pentru identificarea de specie.

Prin trichineloscopie directă și metoda digestiei artificiale s-au evidențiat larve de *Trichinella* spp. la 26 vulpi, 42 de șacali, un câine enot, opt lupi, două pisici sălbatice, un râs, doi jderi de copac, respectiv la un urs brun. Prin tehnica multiplex PCR s-a identificat o singură specie a genului *Trichinella* izolată din musculatura acestor animale sălbatice și anume, specia *T. britovi*.

Studiul prezent aduce informații actuale despre circulația speciei *T. britovi* la un număr de opt carnivore salbatice (lup, vulpe, șacal, pisica sălbatică, urs, câinele enot, jderul de copac, râs) și subliniază rolul de vector al acestora în transmiterea trichinelozei, dar și faptul că, specia *T. britovi* rămâne o prezență constantă a faunei sălbatice din România. Prezentul studiu raportează infestația cu *Trichinella britovi* la câinele enot (*Nyctereutes procyonoides*) și la la jderul de copac (*Martes martes*) pentru prima dată în România. Identificarea speciei *T. britovi* la gazde noi, câinele enot și jderul de copac, subliniază indubitabil faptul că, rezerva parazitară din mediul silvatic se

menține la un nivel consistent, iar cunoașterea acestor gazde vectori noi constituie o permanentă preocupare a specialiștilor din domeniul veterinar și cinegetic.

Următorul subcapitol *Identificarea moleculară a speciei Trichinella pseudospiralis la șacal* raportează prima identificare moleculară a speciei *T. pseudospiralis* la șacal în România. Pentru acest studiu au fost examinate trei exemplare de șacali proveniți de pe fondul de vânatoare Murflatar numărul 36, județul Constanța. 30 g de mușchi de la fiecare exemplar au fost procesate prin digestie artificială, iar larvele rezultate au fost stocate în etanol de 90 % și procesate la Laboratorul de Referință pentru Paraziți al Uniunii Europene, "Istituto Superiore di Sanità" (ISS) (Roma, Italia) pentru identificarea speciei.

Un singur șacal a fost testat pozitiv pentru prezența larvelor de *Trichinella* spp., iar specia identificată prin PCR multiplex a fost *T. pseudospiralis*. Secvența ESV amplificată (OR916274.1) a arătat o identitate de 100% cu secvența omoloagă obținută de la larvele de *T. pseudospiralis* colectate în regiunea Caucazului (S82661.1). Prezentul studiu raportează infestația cu *T. pseudospiralis* la șacal pentru prima dată în România.

Ultimul subcapitol *Identificarea moleculară a speciei Trichinella spiralis la mistreț* descrie identificarea și caracterizarea moleculară a larvelor de *Trichinella* izolate din musculatura mistreților proveniți din vestul, sud-vestul și nord-vestul României. Pentru realizarea acestui studiu au fost examinate probe de musculatură provenită de la 20 de mistreți (*Sus scrofa*), (14 masculi, respectiv șase femele). Aceste animale au provenit din diferite fonduri cinegetice, din șase județe din România (Mehedinți, Caraș-Severin, Timiș, Hunedoara, Satu Mare și Mureș). Probele de musculatură au fost testate pentru prezența larvelor de *Trichinella* spp. prin trichineloscopie directă și prin metoda digestiei artificiale. Ulterior, larvele de *Trichinella* spp. au fost colectate din lichidul de digestie și procesate prin multiplex PCR pentru identificarea speciei. Din cei 20 mistreți supuși studiului doar la șase au fost izolate larve de *Trichinella* spp., iar specia identificată a fost *T. spiralis*. Mistrețul este și rămâne, în România, o importantă gazdă rezervor a *T. spiralis*, o verigă între ciclul domestic și sălbatic, cu reale și grave repercusiuni pentru sănătatea omului, element cheie în epidemiologia bolii.

Acesta este primul studiu care oferă informații actuale despre circulația *T. britovi* la opt specii de carnivore sălbatice (lup, vulpe, șacal, pisică sălbatică, urs, câine enot, jder, râs) și evidențiază faptul că specia *T. britovi* rămâne o prezență constantă a faunei sălbatice în România.

Este primul studiu care raportează infestarea cu *T. britovi* la câinele enot (*Nyctereutes procyonoides*) și la jderul de copac (*Martes martes*) pentru prima dată în România.

Este primul studiu care raportează o infestare a șacalului (*Canis aureus*) cu *T. pseudospiralis* pentru prima dată în România.

SUMMARY

EPIDEMIOLOGICAL STUDY REGARDING THE *TRICHINELLA* *BRITOVI*, *T. PSEUDOSPIRALIS*, AND *T. SPIRALIS* SPECIES CIRCULATING IN ROMANIAN WILD FAUNA

This thesis contains:

List of abbreviations

Summaries in French, Romanian, and English

Bibliographic study 38 pages

Own research 70 pages

Tables 6

Figures 40

Bibliographic sources 337

Trichinellosis, a zoonosis that affects mammals, especially carnivores and omnivores, is widespread throughout the world and is produced by species of the genus *Trichinella*. *T. spiralis* is the best-known species, the domestic pig showing maximum receptivity, followed by an impressive number of domestic and wild hosts, including humans.

The thesis consists of a bibliographic part and the own research. The latter is organized in the following sections: I – the current status of knowledge, II – own research, III – general conclusions and recommendations, IV – originality features, and V – perspectives.

The section titled **The Current Status of Knowledge** includes two chapters that contain information on the etiology, epidemiology, and diagnosis of trichinellosis in animals and humans, inspired by the results of research published in the specialized literature.

The first chapter describes the species of the genus *Trichinella*, and the identification of sources and methods of infection in this important zoonosis, namely the prevalence of the nematode in Romania and Europe.

In chapter two, there are sub-sections that provide more information about the causes of the disease, including a description of the reference species *Trichinella spiralis*, as well as other species that contribute to its development. Additionally, the chapter delves into the complex epidemiology of the disease and emphasizes its prevalence.

The second chapter comprises five sub-chapters that present details on etiology, epidemiology, clinical features, histopathology, and laboratory diagnosis.

The own research section includes two chapters where the main objectives of the thesis, the materials and methods used, the research findings, conclusions, and recommendations are presented.

Chapter *Descriptive epidemiology of trichinellosis in wild carnivores and wild boar* aims to explore the relevant descriptive characteristics of trichinellosis epidemiology, in wild animals from several hunting funds; research conducted in 23 counties of Romania. The specific objectives were: the examination of muscle samples from these animals by direct trichineloscopy and artificial digestion; microscopic identification of *Trichinella* spp. larvae; determination of the trichinosis prevalence in studied animals, and statistical interpretation of obtained results.

The research was carried out between 2020-2023, on several 265 wild animals from different hunting funds in 23 counties of Romania. The study was conducted on 112 foxes (*Vulpes vulpes*), 73 jackals (*Canis aureus*), 20 wild boars (*Sus scrofa*), 17 wild cats (*Felis silvestris*), 14 badgers (*Meles meles*), 12 tree martens (*Martes martes*), 9 wolves (*Canis lupus*), 6 bears (*Ursus arctos*), one raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*), and one lynx (*Lynx lynx*). To determine the diagnosis, muscle samples from each animal were examined for the presence of *Trichinella* spp. larvae by direct trichineloscopy and the artificial digestion method. The experimental data was analyzed using IBM-SPSS 20 and EXCEL for statistical processing. Descriptive statistics elements were calculated, and column graphs and radar charts were created. Following direct trichinoscopy examination, cysts with larvae of *Trichinella* spp. were identified in 89/265 (33.58%) of the wild animals examined. Artificial digestion method was used, *Trichinella* spp. larvae were isolated from 90/265 (33.96%) sylvatic hosts. The results of the epidemiological study revealed values of the prevalence of trichinellosis, as follows: 23.21% in foxes, 58.90% in jackals, 30.00% in wild boars, 11.76% in wild cats, 16.66% in pine martens, 88.88% in wolves, 16.66% in brown bears, in a raccoon dog, and in a lynx.

The statistical interpretation of the results of the epidemiological investigations carried out between 2019-2023, on 265 wild animals from different hunting funds, from 23 counties of Romania, of which 90 were diagnosed with trichinellosis, reveals significant annual differences in the prevalence of infestation with the zoonotic nematode. Analyzing the prevalence of trichinellosis during the study (2020-2023), an annual growth trend is observed, with the Pearson linear correlation coefficient having the value $R=0.691$. The associated time series assumes that the regression line has the value $y = 0.0586x - 118.05$. Mann-Whitney U test was applied and significant differences were observed between the years considered in the study regarding the number of infestations with *Trichinella* spp: 2020 vs. 2022 ($p=0.046<0.05$), 2021 vs. 2022 ($p=0.049<0.05$) and 2022 vs. 2023 ($p= 0.046<0.05$).

According to the present study nine wildlife hosts from 23 counties of Romania are infested with the *Trichinella* nematode. The study carried out over four years revealed a prevalence of trichinellosis of 33.96% following examination by artificial digestion of muscle samples collected from wild carnivores and wild boar. The present study brings new information about the prevalence of trichinellosis in wolves (88.88%), jackals (58.90%), foxes (23.21%), pine martens (16.66%), brown bears (16.66%), wild cats (11.76%), in a raccoon dogs (100%), in a lynx (100%), and wild boars (30%), in Romania.

The present study reports for the first time in Romania the infection with *Trichinella* spp. in the raccoon dog and pine marten. The presence of *Trichinella* spp. larvae has been detected in nine different hosts from the wild fauna in Romania. This discovery highlights the role of these hosts as vectors of the zoonotic nematode, which can pose a risk of infestation to humans. These hosts also act as a link between the wild ecosystem and the peripheral domestic ecosystem, increasing the risk of transmission.

Chapter *Molecular epidemiology of Trichinella species in wild carnivores and wild boars* is divided into three sub-chapters and describes the zoonotic nematode species present in the wildlife in our country.

In the first subchapter, the recent study aimed to explore the relevant molecular characteristics of the epidemiology of trichinellosis, in 83 wild animals (eight hosts) from several hunting funds, from 21 counties of Romania. The specific objectives were: the examination of muscle samples from these animals by direct trichineloscopy and artificial digestion; microscopic identification of *Trichinella* spp. larvae and molecular characterization of the obtained isolates. 242 wild animals (nine hosts) from different hunting funds in 21 counties of Romania were examined, by direct trichineloscopy and the artificial digestion method, and the larvae obtained were processed by multiplex PCR for species identification.

Through direct trichineloscopy and the artificial digestion method, larvae of *Trichinella* spp. were revealed in 26 foxes, 42 jackals, one raccoon dog, eight wolves, two wild cats, one lynx, two pine martens, and in one brown bear. Using the multiplex PCR, a single species of the genus *Trichinella* isolated from the muscles of these wild animals was identified, namely, the species *T. britovi*.

The present study provides current information on the circulation of *T. britovi* to several eight wild carnivores (wolf, fox, jackal, wild cat, bear, raccoon dog, pine marten, lynx) and emphasizes their role as a vector in the transmission of trichinellosis, but also the fact that the species *T. britovi* remains a constant presence of wild fauna in Romania. The present study reports the infestation of *T. britovi* in the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) and the pine marten (*Martes martes*) for the first time in Romania. The identification of the species *T. britovi* in new

hosts, the raccoon dog and the pine marten, undoubtedly underlines the fact that the parasite reserve in the sylvatic environment is maintained at a consistent level, and the knowledge of these new vector hosts is a permanent concern of veterinary and hunting specialists.

The next subchapter *Molecular identification of Trichinella pseudospiralis species in the jackal* reports the first molecular identification of the species *T. pseudospiralis* in jackals in Romania. Three specimens of jackals were examined for this species from Murflatar hunting fund number 36, Constanța county. 30 grams of muscle from each specimen was processed by artificial digestion, and the resulting larvae were stored in 90% ethanol and processed at the Reference Laboratory for Parasites of the European Union, "Istituto Superiore di Sanità" (ISS) (Rome, Italy) for species identification.

A single jackal tested positive for the presence of *Trichinella* spp. larvae, and the species identified by multiplex PCR was *T. pseudospiralis*. The amplified ESV sequence (OR916274.1) showed 100% identity with the homologous sequence obtained from *T. pseudospiralis* larvae collected in the Caucasus region (S82661.1). The present study reports *T. pseudospiralis* infestation in jackals for the first time in Romania.

The last chapter *Molecular identification of the species Trichinella spiralis in wild boar* describes the identification and molecular characterization of *Trichinella* larvae isolated from the musculature of wild boars from the west, southwest, and northwest of Romania. For this study, muscle samples derived from 20 wild boars (*Sus scrofa*), (14 males, respectively six females) were examined. These animals came from different hunting funds, from six counties in Romania (Mehedinți, Caraș-Severin, Timiș, Hunedoara, Satu Mare, and Mureș). The muscle samples were tested for the presence of *Trichinella* spp. larvae by direct trichineloscopy and the artificial digestion method. Subsequently, *Trichinella* spp. larvae were collected from the digestion fluid and processed by multiplex PCR for species identification. Of the 20 wild boars under study, *Trichinella* spp. larvae were isolated from only six, and the identified species was *T. spiralis*. The wild boar is and remains, in Romania, an important reservoir host of *T. spiralis*, a link between the domestic and wild cycle, with real and serious repercussions for human health, and a key element in the epidemiology of the disease.

This is the first study to provide current information on the circulation of *T. britovi* in eight wild carnivore species (wolf, fox, jackal, wild cat, bear, raccoon dog, pine marten, lynx) and highlights that *T. britovi* remains a constant presence in wild fauna in Romania.

This is the first study performed in Romania reporting *T. britovi* infestation in the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) and the pine marten (*Martes martes*).

This is the first study performed in Romania reporting jackal (*Canis aureus*) infestation with *T. pseudospiralis*.