

Rezumatul tezei de doctorat
CERCETĂRI PRIVIND ETIOLOGIA, PREVALENȚA, DIAGNOSTICUL ȘI
TRATAMENTUL STRONGILIDOZELOR LA ECVIDE DIN JUDEȚELE ALBA
ȘI TIMIȘ

Prezenta teză conține:

Listă de abrevieri

Rezumatele în limba română și engleză

Introducere

Stadiul actual al cunoașterii: 16 pagini

Cercetările proprii: 70 pagini

Tabele: 10

Figuri: 53

Surse bibliografice: 200

Anexe: 6

Diversele infestații parazitare cu numeroasele categorii de paraziți, dar mai ales cu helminți, reprezintă o cauză importantă a morbidității și chiar mortalității, deopotrivă la animale și la oameni.

Peste tot în lume, caii sunt expuși infestațiilor parazitare cu helminți aparținând mai multor ordine și genuri, ceea ce poate genera o morbiditate și o mortalitate semnificative.

Pentru o bună înțelegere a acestor infestații și a afecțiunilor asociate lor este foarte importantă identificarea cu acuratețe a paraziților implicați.

Scopul prezentei teze de doctorat a fost acela de a evalua compoziția speciilor de helminți prezenți la ecvidee (cai și măgari) din județele Alba și Timiș și de a investiga prezența fenomenului de rezistență la antihelminticele benzimidazolice, cele mai utilizate în deparazitări la cabaline.

Teza conține o parte introductivă și cercetarea propriu-zisă. Aceasta din urmă este alcătuită din: I. Stadiul actual al cunoașterii.

II. Cercetări proprii

III. Concluzii generale și recomandări

IV. Elementele de originalitate.

În **capitolul introductiv**, sunt prezentate motivația alegerii temei de cercetare, importanța și actualitatea temei alese, o scurtă prezentare a conținutului și a obiectivelor științifice propuse cercetării.

I. Stadiul actual al cunoașterii

Această parte a tezei se extinde pe 16 pagini și cuprinde două capitole.

Capitolul 1. Principalele helmintoze digestive ale cabalinelor

În acest capitol sunt dezbătute, pe scurt, unele aspecte generale ale etiologiei fiecărei specii, ciclul evolutiv al paraziților, dar și aspecte ale epizootologiei, fiind detaliați factori implicați în apariția acestor parazitoze, cum ar fi: sursele de infestație, căile de infestație, rezistența în mediu și longevitatea parazitului.

Capitolul 2. Rezistența helminților la antiparazitare

Al doilea capitol oferă informații despre rezistența helminților la antiparazitare, fiind împărțit în 3 subcapitole.

În primul subcapitol sunt prezentate date generale privind fenomenul de rezistență la antihelmintice, cailor fiind expuși frecvent la infestații cu nematode gastrointestinale, astfel se impune dezvoltarea unor metode de diagnostic mai precise și aplicarea unor strategii durabile de control parazitar.

Cel de-al doilea subcapitol prezintă rezistența la diverse clase de antihelmintice, astfel programele de tratament aplicate la intervale regulate au favorizat apariția rezistenței la antihelmintice.

Ultimul subcapitol descrie metodele prin care se poate efectua măsurarea rezistenței la antihelmintice. Testul de reducere a numărului de ouă din fecale (FECRT – *faecal egg count reduction test*) fiind cea mai recomandată metodă publicată de *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology* – WAAVP, reprezentând actualmente metoda ”gold standard”.

II. Cercetări proprii

Această parte se extinde pe 70 de pagini și este compusă din cinci capitole.

3. Prevalența paraziților gastrointestinali identificați la cai din gospodăriile populației din județul Alba

Obiectivul prezentului studiu este acela de a determina prevalența paraziților gastrointestinali la caii din gospodăriile populației din județul Alba.

Studiul a fost realizat pe o perioadă de doi ani (martie 2022 – septembrie 2024) pe probe provenite de la cabaline din 26 localități ale județului Alba, majoritatea aflate în zona de podiș sau luncă.

Pe parcursul studiului au fost colectate 517 probe de fecale, reprezentând 7,38% din totalul celor aproximativ 7000 de cabaline înregistrate în județul Alba.

Cabalinele (masculi, n = 245 și femele, n = 272) luate în studiu au aparținut raselor: Metis (n = 361), Semigreu (n = 78), Friesian (n = 18), Tinker (n = 3), Pinto (n = 3), Furioso (n = 6), Lipițan (n = 25), Ardenez (n = 1), Nonius (n = 13), Gidran (n = 3), Huțul (n = 2), respectiv Pur sânge englez (n = 4) fiind împărțite în trei categorii de vârstă: tinere (6 luni – 5 ani), adulte (> 5 ani – 10 ani), respectiv bătrâne (> 10 ani – 15 ani). Vârsta animalelor a fost determinată pe baza dentiției

De la indivizii supuși studiului s-au colectat între 30 și 50 g de fecale proaspăt eliminate. Probele au fost procesate prin metodele Willis și McMaster.

Pentru a evalua eventualele diferențe semnificative din punct de vedere statistic între datele colectate și prevalența infestației a fost utilizat testul Fisher – GraphPad QuickCalcs (2025) (GraphPad Software, Inc.).

Din cele 517 probe de fecale examinate, 462 (89,36%) au fost pozitive în cazul infestațiilor cu paraziți gastrointestinali. Prevalența strongililor digestivi s-a dovedit a fi predominantă 326/517 (63,06%), urmată de *Parascaris equorum* (201/517; 38,88%) și *Anoplocephala* spp. (93/517; 17,99%) (Fig. 3.3. – 3.6.), în timp ce *Strongyloides westeri* (36/517; 6,96%), respectiv *Oxyuris equi* (27/517; 5,22%) au fost cel mai slab reprezentați. Totodată, cele mai multe cabaline dintre cele pozitive la infestații au prezentat poliparazitism (383/462; 82,90%).

4. Prevalența paraziților gastrointestinali la măgarii din județul Alba

Scopul acestui studiu a fost acela de a identifica paraziții intestinali la măgarii din nord-estul județului Alba.

Au fost colectate probe fecale de la 29 măgari din cinci localități (Ocna Mureș, Unirea, Lunca Mureșului, Noșlac și Fărău) pe o rază de 10 km în jurul localității Ocna Mureș din centrul

României. Vârsta acestora a variat de la 11 luni la 18 ani.

Probele au fost analizate prin metoda cantitativă McMaster.

Evaluarea diferențelor din punct de vedere statistic vizând datele colectate și prevalența infestației s-a realizat cu ajutorul testului Fisher – GraphPad QuickCalcs (2025) (GraphPad Software, Inc.).

Din cei 29 de măgari investigați, doar 27 (93,10%) au fost parazitați. De asemenea, a fost observat frecvent poliparazitismul.

Cele mai răspândite specii au fost strongiliii digestivi (în special ciathostominele), cu 93,10%. Oncosferele au fost eliminate de 6 măgari (20,68%), în timp ce ouăle de *Parascaris equorum* au fost identificate la doar patru indivizi (13,79%). Ouăle de *Strongyloides westeri* și cele de *Oxyuris equi* au fost observate la câte trei indivizi pentru fiecare categorie (10,34% fiecare dintre ei).

Cei mai intens parazitați cu strongili digestivi au fost măgarii din Fărău (1125 OPG mediu). *P. equorum* a fost identificat în trei localități, cea mai mare încărcătură parazitară fiind semnalată în Lunca Mureșului (350 OPG). În cazul lui *S. westeri*, cea mai semnificativă eliminare de elemente parazitare în Noșlac (300 OPG)

Strongiliii digestivi au fost speciile cu cea mai mare prevalență (93,10%), diferențele fiind semnificative comparativ cu celelalte specii parazitare identificate (*Parascaris equorum*, *Strongyloides westeri*, cestode și *Oxyuris equi*).

5. Caracteristicile morfologice ale larvelor infestante de strongili digestivi

Scopul prezentului studiu a fost acela de a identifica tipurile de L3 obținute din culturi larvare provenite din fecale de la cai din județul Alba.

Pentru realizarea obiectivului au fost recoltate 50-100 grame de fecale proaspete de la caii amintiți în studiul anterior, care au avut OPG-urile cele mai mari (de peste 2000).

Studiul s-a derulat pe un număr de 167 de larve, deopotrivă de strongili mari și mici.

În cadrul genului *Cyathostomum sensu lato* au fost identificate toate cele 8 tipuri larvare cunoscute, cu 6, 7 sau 8 celule intestinale. Se poate constata cu ușurință că abundența larvară aparține tipului A (41,91%). Acesta este urmat ca pondere de tipul D (14,97%), tipul C (10,78%), respectiv tipul B (8,98%). Cea mai slabă reprezentare au avut-o tipurile E și H, ambele cu o pondere de doar 0,59%.

Pentru celelalte tipuri de larve de strongili digestivi, cele mai însemnate ponderi au fost semnalate la *Triodontophorus* spp. și *S. edentatus*, ambele cu câte 2,99%, urmate de *S. vulgaris*

cu 2,39%. Cea mai mică reprezentare au avut *Gyalocephalus capitatus*, respectiv *Poteriostomum* spp., ambele cu câte 0,59%, la fel ca în cazul ciathostominelor de tip E și H.

6. Identificarea și cartarea speciilor de ciathostomine întâlnite în județul Alba

Scopul acestui capitol a fost acela de a evalua compoziția speciilor de strongili prezenți la cabaline din localitățile Unirea, Fărău, Lopadea Nouă, Meteș și Vințu de Jos din județul Alba.

Pentru identificarea speciilor de strongili prezenți la cabaline în județul Alba au fost selectați cinci cai. Toți caii au fost dehelmințiizați cu fenbendazol (Panacur 10%, 5 mg/kg), iar începând cu 12 ore de la administrare, toate fecalele eliminate timp de 24 de ore au fost colectate.

În cele cinci localități investigate au fost identificate 18 specii de strongili.

Au fost identificate 11 genuri de strongili digestivi, cel mai bine reprezentat fiind *Cylicocyclus*, cu patru specii, urmat de *Triodontophorus*, cu trei specii, respectiv *Coronocyclus* și *Strongylus*, cu câte două specii fiecare. Restul genurilor au fost reprezentate de câte o singură specie.

Genul *Cylicocyclus* a fost cel mai bine reprezentat, cu aproape o treime (31,53%), urmat, în ordine descrescătoare, de genul *Triodontophorus* (20,44%) și genul *Coronocyclus* (16,72%). Cea mai slabă reprezentare la nivel de gen au avut-o *Cylicodontophorus* (1,75%), *Poteriostomum* (0,90%), respectiv *Oesophagodontus* (0,62%).

7. Cercetări privind fenomenul de rezistență la benzimidazolice într-o fermă de măgari din județul Timiș

Scopul acestui studiu a fost acela de a evalua compoziția speciilor de helminți prezenți la măgari din localitatea Parța, județul Timiș și de investiga prezența fenomenului de rezistență la antihelminticele benzimidazolice, cele mai utilizate în deparazitări la cabaline.

În toamna anului 2024 a fost examinat coproparazitologic un efectiv de măgari din localitatea Parța, județul Timiș.

Au fost selectate randomic și examinate coproscopic câte 7 animale pentru lotul martor, respectiv alte 7 animale pentru lotul de testat.

S-au recoltat între 50 și 150 g de fecale proaspăt eliminate de la indivizii luați în studiu și au fost procesate prin metoda Willis și metoda McMaster.

Au fost utilizate teste pentru depistarea rezistenței la antihelminte, cum ar fi testul reducerii numărului de ouă din fecale (FECRT) și reacția în lanț a polimerazei (PCR).

Pentru a realiza testul reducerii numărului de ouă din fecale au fost recoltate probe de fecale în zilele 0 înainte de tratament, apoi în zilele 7, respectiv 14 zile post tratament. Procentul reducerii numărului de ouă din fecale se poate calcula și prin utilizarea altor trei metode cum ar fi: metoda descrisă de Dash și col. în 1988, metoda descrisă de Kochapakdee și col. în 1995, respectiv metoda descrisă de Cabaret și Berrag în 2004.

Între cele trei metode de calcul există diferențe infime, care nu influențează rezultatul și, ca urmare, metoda clasică a FECRT reprezintă încă **”golden standard-ul”** în identificarea rezistenței la antihelmintice.

Reacția PCR a fost efectuată după tehnica descrisă de Gasser și col. (1993), cu unele mici modificări, cu ajutorul genei ITS2 și a primerilor NC1 (ACGTCTGGTTCAGGGTTGTT) și NC2 (TTAGTTTCTTTTCCTCCGCT).

Chemorezistența la benzimidazole a fost determinată și prin reacția în lanț a polimerazei (PCR). Primerii utilizați pentru identificarea rezistenței la antihelmintice au fost: Reverse - CN30R (nonspecific) cu secvența 5' AGC AGA GAG GGG AGC AAA GCC AGG 3' și Forward - CN24FS (specific alele susceptibile) cu secvența 5' GGT TGA AAA TAC AGA CGA GAC TTT 3' sau - CN25FR (specific alele rezistente) cu secvența 5' GGT TGA AAA TAC AGA CGA GAC TTA 3'.

Identificarea strongililor rezistenți la benzimidazol a fost efectuată folosind setul de primeri CN25FR/CN30R, în timp ce setul de primeri CN24FS/CN30R a fost utilizat pentru strongilii sensibili la benzimidazol.

Toate probele analizate au avut un răspuns pozitiv la aproximativ 400 bp. Analiza BLAST pentru fiecare din probele prezente în godeurile 2 – 11 a demonstrat prezența mai multor specii, după cum urmează: în godeul 2 = *Cylicocyclus insigne*, corespunzător secvenței JQ906419.1; în godeul 3 = *Cylicocyclus nassatus*, corespunzător secvenței MT193649.1; în godeul 4 = *Cylicocyclus nassatus*, corespunzător secvenței MF489227.1; în godeul 5 = *Coronocyclus labratus*, corespunzător secvenței KY747449.2; în godeul 6 = *Cylicocyclus nassatus*, corespunzător secvenței MF489227.1; în godeul 7 = *Coronocyclus labiatus*, corespunzător secvenței JN786948.2; în godeul 8 = *Cylicocyclus auriculatus*, corespunzător secvenței JQ906415.1; în godeul 9 = *Cylicocyclus auriculatus*, corespunzător secvenței JQ906415.1; în godeul 10 = *Cyathostomum montgomeryi*, corespunzător secvenței MZ435572.1, iar în godeul 11 = *Cyathostomum montgomeryi*, corespunzător secvenței MZ435572.1.

Din cele 10 probe testate, au fost identificate molecular șase specii: trei *Cylicocyclus nassatus* (una dintre cele mai răspândite specii de ciathostomine), câte două *Cylicocyclus auriculatus* și *Cyathostomum montgomeryi* (semnalat pentru prima dată în zona de vest a României), respectiv *Cylicocyclus insigne*, *Coronocyclus labratus* și *Coronocyclus labiatus*.

Probele susceptibile de rezistență la benzimidazolice cuprind speciile *Cylicocyclus nassatus*, *Cylicocyclus auriculatus*, respectiv *Cyathostomum montgomeryi*, în timp ce celelalte trei specii: *Cylicocyclus insigne*, *Coronocyclus labratus* și *Coronocyclus labiatus* nu au această susceptibilitate.

The Summary of the Doctoral Thesis

RESEARCH ON THE ETIOLOGY, PREVALENCE, DIAGNOSIS, AND TREATMENT OF STRONGYLOSIS IN EQUIDS FROM ALBA AND TIMIŞ COUNTIES

The present thesis includes:

List of Abbreviations

Abstracts in Romanian, English and French

Introduction

Current State of Knowledge: 16 pages

Original Research: 70 pages

Tables: 10

Figures: 53

Bibliographic References: 200

Appendices: 6

Various parasitic infestations with numerous categories of parasites, particularly helminths, represent an important cause of morbidity and even mortality in both animals and humans.

All over the world, horses are exposed to parasitic infestations with helminths belonging to various orders and genera, which may result in significant morbidity and mortality.

For a proper understanding of these infestations and the associated diseases, it is essential to accurately identify the parasites involved.

The aim of this doctoral thesis was to evaluate the species composition of helminths present in equids (horses and donkeys) from Alba and Timiș counties, and to investigate the occurrence of resistance to benzimidazole anthelmintics, which are the most commonly used in deworming treatments in equines.

The thesis comprises an introductory section and the actual research. The latter is structured as follows: I. Current State of Knowledge

II. Original Research

III. General Conclusions and Recommendations

IV. Elements of Originality.

The **introductory chapter** presents the rationale for selecting the research topic, the significance and relevance of the chosen subject, as well as a brief overview of the content and the scientific objectives proposed for the study.

I. Current State of Knowledge

This section of the thesis extends over 16 pages and comprises two chapters.

Chapter 1. The Main Digestive Helminthiases of Equines

This chapter briefly discusses certain general aspects of the etiology of each species, the life cycle of the parasites, as well as epizootological considerations, with detailed emphasis on the factors involved in the occurrence of these parasitoses, such as sources of infestation, routes of transmission, environmental resistance, and parasite longevity.

Chapter 2. Helminth Resistance to Antiparasitic Agents

The second chapter provides information on helminth resistance to antiparasitic agents and is divided into three subchapters.

The first subchapter presents general data on the phenomenon of anthelmintic resistance. Since horses are frequently exposed to infestations with gastrointestinal nematodes, there is a need to develop more accurate diagnostic methods and to implement sustainable parasite control strategies.

The second subchapter addresses resistance to different classes of anthelmintics, highlighting how treatment programs applied at regular intervals have contributed to the emergence of anthelmintic resistance

The final subchapter describes the methods used to measure anthelmintic resistance, with the faecal egg count reduction test (FECRT) being the most widely recommended approach, as published by the *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology* (WAAVP). This method is currently regarded as the “gold standard.”

II. Original Research

This section extends over 70 pages and is composed of five chapters.

3. Prevalence of Gastrointestinal Parasites Identified in Horses from Household Settings in Alba County

The objective of the present study is to determine the prevalence of gastrointestinal parasites in horses from household settings in Alba County.

The study was conducted over a two-year period (March 2022 – September 2024) on samples collected from equines in 26 localities of Alba County, most of which are located in plateau or meadow areas.

During the study, 517 fecal samples were collected, representing 7.38% of the approximately 7,000 equines registered in Alba County.

The equines included in the study (males, $n = 245$; females, $n = 272$) belonged to the following breeds: Crossbred ($n = 361$), Semidraft ($n = 78$), Friesian ($n = 18$), Tinker ($n = 3$), Pinto ($n = 3$), Furioso ($n = 6$), Lipizzaner ($n = 25$), Ardennes ($n = 1$), Nonius ($n = 13$), Gidran ($n = 3$), Hucul ($n = 2$), and Thoroughbred ($n = 4$). They were divided into three age categories: young (6 months – 5 years), adult (> 5 years – 10 years), and old (> 10 years – 15 years). The animals' ages were determined based on dentition.

From each individual, between 30 and 50 g of freshly voided feces were collected. The samples were processed using the Willis and McMaster methods.

To evaluate potential statistically significant differences between the collected data and the prevalence of infestation, Fisher's test was used – GraphPad QuickCalcs (2025) (GraphPad Software, Inc.).

Of the 517 fecal samples examined, 462 (89.36%) were positive for gastrointestinal parasitic infestations. The prevalence of digestive strongyles was found to be predominant, 326/517 (63.06%), followed by *Parascaris equorum* (201/517; 38.88%) and *Anoplocephala* spp. (93/517; 17.99%) (Fig. 3.3–3.6), while *Strongyloides westeri* (36/517; 6.96%) and *Oxyuris equi* (27/517; 5.22%) were the least represented. Furthermore, most of the equines positive for infestations exhibited polyparasitism (383/462; 82.90%).

4. Prevalence of Gastrointestinal Parasites in Donkeys from Alba County

The aim of this study was to identify intestinal parasites in donkeys from the northeastern part of Alba County.

Fecal samples were collected from 29 donkeys originating from five localities (Ocna Mureș, Unirea, Lunca Mureșului, Noșlac, and Fărău) within a 10 km radius around Ocna Mureș, located in central Romania. Their ages ranged from 11 months to 18 years.

The samples were analyzed using the quantitative McMaster method.

Statistical evaluation of differences between the collected data and infestation prevalence was performed using Fisher's test – GraphPad QuickCalcs (2025) (GraphPad Software, Inc.).

Of the 29 donkeys examined, 27 (93.10%) were found to be parasitized. Polyparasitism was also frequently observed.

The most widespread species were digestive strongyles (particularly cyathostomins), with a prevalence of 93.10%. *Oncospheres* were eliminated by 6 donkeys (20.68%), while *Parascaris equorum* eggs were identified in only four individuals (13.79%). *Strongyloides westeri* eggs and *Oxyuris equi* eggs were each observed in three individuals (10.34% each).

The most heavily parasitized with digestive strongyles were the donkeys from Fărău, with an average of 1125 EPG. *P. equorum* was identified in three localities, with the highest parasite burden recorded in Lunca Mureșului (350 EPG). In the case of *S. westeri*, the most significant egg shedding was observed in Noșlac (300 EPG).

Digestive strongyles were the species with the highest prevalence (93.10%), with statistically significant differences compared to the other parasitic species identified (*Parascaris equorum*, *Strongyloides westeri*, cestodes, and *Oxyuris equi*).

5. Morphological Characteristics of Infective Larvae of Digestive Strongyles

The aim of the present study was to identify the types of L3 larvae obtained from larval cultures derived from fecal samples of horses from Alba County.

To achieve this objective, 50–100 grams of fresh feces were collected from the horses mentioned in the previous study, specifically those with the highest egg counts (over 2000 EPG).

The study was conducted on a total of 167 larvae, including both large and small strongyles.

Within the genus *Cyathostomum sensu lato*, all eight known larval types were identified, with 6, 7, or 8 intestinal cells. It was readily observed that larval abundance was dominated by type A (41.91%). This was followed in proportion by type D (14.97%), type C (10.78%), and type B (8.98%). The least represented were types E and H, each accounting for only 0.59%.

Among the other types of digestive strongyle larvae, the highest proportions were recorded for *Triodontophorus* spp. and *S. edentatus*, both with 2.99%, followed by *S. vulgaris* with 2.39%. The lowest representation was noted for *Gyalocephalus capitatus* and *Poteriostomum* spp., both with 0.59%, similar to cyathostomin types E and H.

6. Identification and Mapping of Cyathostomin Species Found in Alba County

The aim of this chapter was to evaluate the species composition of strongyles present in equines from the localities of Unirea, Fărău, Lopadea Nouă, Meteș, and Vințu de Jos in Alba County.

For the identification of strongyle species present in equines in Alba County, five horses were selected. All horses were dewormed with fenbendazole (Panacur 10%, 5 mg/kg), and beginning 12 hours after administration, all feces eliminated over a 24-hour period were collected.

Across the five investigated localities, 18 strongyle species were identified.

A total of 11 genera of digestive strongyles were recorded, the most represented being *Cylicocyclus* with four species, followed by *Triodontophorus* with three species, and *Coronocyclus* and *Strongylus*, each with two species. The remaining genera were represented by only a single species.

At the genus level, *Cylicocyclus* was the most prevalent, accounting for nearly one-third (31.53%), followed in decreasing order by *Triodontophorus* (20.44%) and *Coronocyclus* (16.72%). The least represented genera were *Cylicodontophorus* (1.75%), *Poteriostomum* (0.90%), and *Oesophagodontus* (0.62%).

7. Research on the Phenomenon of Benzimidazole Resistance in a Donkey Farm in Timiș County

The aim of this study was to evaluate the species composition of helminths present in donkeys from Parța, Timiș County, and to investigate the occurrence of resistance to benzimidazole anthelmintics, the most commonly used in equine deworming.

In the autumn of 2024, a donkey population from Parța, Timiș County, was examined coproparasitologically. A total of 14 animals were randomly selected and examined coproscopically, with 7 allocated to the control group and another 7 to the test group.

Between 50 and 150 g of freshly voided feces were collected from the studied individuals and processed using the Willis and McMaster methods.

Tests were employed to detect anthelmintic resistance, such as the faecal egg count reduction test (FECRT) and polymerase chain reaction (PCR).

For the FECRT, fecal samples were collected on day 0 before treatment, and subsequently on days 7 and 14 post-treatment. The percentage of fecal egg count reduction can also be calculated using three alternative methods: the one described by Dash et al. (1988), the one described by Kochapakdee et al. (1995), and the one described by Cabaret and Berrag (2004).

Among the three calculation methods, the differences are minimal and do not affect the outcome; therefore, the classical FECRT method still represents the “gold standard” for identifying anthelmintic resistance.

The PCR assay was performed according to the technique described by Gasser et al. (1993), with slight modifications, using the ITS2 gene and the primers NC1 (ACGTCTGGTTCAGGGTTGTT) and NC2 (TTAGTTTCTTTTCCTCCGCT).

Benzimidazole chemoresistance was also determined by polymerase chain reaction (PCR). The primers used for the identification of anthelmintic resistance were: Reverse – CN30R (nonspecific) with the sequence 5' AGC AGA GAG GGG AGC AAA GCC AGG 3', and Forward – CN24FS (specific for susceptible alleles) with the sequence 5' GGT TGA AAA TAC AGA CGA GAC TTT 3' or CN25FR (specific for resistant alleles) with the sequence 5' GGT TGA AAA TAC AGA CGA GAC TTA 3'.

The identification of strongyles resistant to benzimidazole was performed using the primer set CN25FR/CN30R, while the primer set CN24FS/CN30R was used for strongyles sensitive to benzimidazole.

All analyzed samples yielded a positive response at approximately 400 bp. BLAST analysis of each sample from wells 2–11 demonstrated the presence of several species, as follows: well 2 = *Cylicocycylus insigne*, corresponding to sequence JQ906419.1; well 3 = *Cylicocycylus nassatus*, corresponding to sequence MT193649.1; well 4 = *Cylicocycylus nassatus*, corresponding to sequence MF489227.1; well 5 = *Coronocycylus labratus*, corresponding to sequence KY747449.2; well 6 = *Cylicocycylus nassatus*, corresponding to sequence MF489227.1; well 7 = *Coronocycylus labiatus*, corresponding to sequence JN786948.2; well 8 = *Cylicocycylus auriculatus*, corresponding to sequence JQ906415.1; well 9 = *Cylicocycylus auriculatus*, corresponding to sequence JQ906415.1; well 10 = *Cyathostomum montgomeryi*, corresponding to sequence MZ435572.1; and well 11 = *Cyathostomum montgomeryi*, corresponding to sequence MZ435572.1.

Out of the 10 samples tested, six species were identified at the molecular level: three *Cylicocycylus nassatus* (one of the most widespread cyathostomin species), two *Cylicocycylus auriculatus*, and two *Cyathostomum montgomeryi* (reported for the first time in western Romania), as well as *Cylicocycylus insigne*, *Coronocycylus labratus*, and *Coronocycylus labiatus*.

The samples susceptible to benzimidazole resistance included the species *Cylicocycylus nassatus*, *Cylicocycylus auriculatus* and *Cyathostomum montgomeryi*, while the other three species, *Cylicocycylus insigne*, *Coronocycylus labratus* and *Coronocycylus labiatus*, did not show this susceptibility.

Résumé de la thèse de doctorat

RECHERCHES SUR L'ÉTIOLOGIE, LA PRÉVALENCE, LE DIAGNOSTIC ET LE TRAITEMENT DES STRONGYLOSES CHEZ LES ÉQUIDÉS DANS LES DÉPARTEMENTS D'ALBA ET DE TIMIŞ

La présente thèse comprend:

Liste des abréviations

Résumés en roumain, en anglais et en français

Introduction

État actuel des connaissances: 16 pages

Recherches originales: 70 pages

Tableaux: 10

Figures: 53

Références bibliographiques: 200

Annexes: 6

Diverses infestations parasitaires, impliquant de nombreuses catégories de parasites, en particulier les helminthes, constituent une cause importante de morbidité et même de mortalité chez les animaux comme chez les humains.

Partout dans le monde, les chevaux sont exposés à des infestations parasitaires par des helminthes appartenant à divers ordres et genres, ce qui peut entraîner une morbidité et une mortalité significatives.

Pour une bonne compréhension de ces infestations et des maladies qui leur sont associées, il est essentiel d'identifier avec précision les parasites impliqués.

L'objectif de cette thèse de doctorat a été d'évaluer la composition spécifique des helminthes présents chez les équidés (chevaux et ânes) des départements d'Alba et de Timiș, ainsi que d'examiner la présence du phénomène de résistance aux anthelminthiques de la famille des benzimidazoles, les plus couramment utilisés dans les traitements de déparasitage chez les équidés.

La thèse comprend une section introductive et la partie consacrée à la recherche proprement dite. Cette dernière est structurée comme suit: I. État actuel des connaissances

II. Recherches originales

III. Conclusions générales et recommandations

IV. Éléments d'originalité.

Le **chapitre introductif** présente la motivation du choix du sujet de recherche, l'importance et l'actualité du thème retenu, ainsi qu'un bref aperçu du contenu et des objectifs scientifiques proposés pour l'étude.

I. État actuel des connaissances

Cette section de la thèse s'étend sur 16 pages et comprend deux chapitres.

Chapitre 1. Les principales helminthiases digestives des équidés

Ce chapitre aborde brièvement certains aspects généraux de l'étiologie de chaque espèce, le cycle de vie des parasites, ainsi que des considérations épizootologiques, en mettant en évidence les facteurs impliqués dans l'apparition de ces parasitoses, tels que les sources d'infestation, les voies de transmission, la résistance dans l'environnement et la longévité des parasites.

Chapitre 2. Résistance des helminthes aux agents antiparasitaires

Le deuxième chapitre fournit des informations sur la résistance des helminthes aux agents antiparasitaires et est divisé en trois sous-chapitres.

Le premier sous-chapitre présente des données générales concernant le phénomène de résistance aux anthelminthiques. Les chevaux étant fréquemment exposés aux infestations par des nématodes gastro-intestinaux, il est nécessaire de développer des méthodes de diagnostic plus précises et de mettre en œuvre des stratégies durables de contrôle parasitaire.

Le deuxième sous-chapitre traite de la résistance aux différentes classes d'anthelminthiques, en soulignant comment les programmes de traitement appliqués à intervalles réguliers ont favorisé l'émergence de cette résistance.

Le dernier sous-chapitre décrit les méthodes permettant de mesurer la résistance aux anthelminthiques, le test de réduction du nombre d'œufs dans les fèces (FECRT – faecal egg count reduction test) étant la méthode la plus recommandée par la World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP), représentant actuellement la méthode de référence, le « gold standard ».

II. Recherches originales

Cette section s'étend sur 70 pages et se compose de cinq chapitres.

3. Prévalence des parasites gastro-intestinaux identifiés chez les chevaux des exploitations familiales du département d'Alba

L'objectif de la présente étude est de déterminer la prévalence des parasites gastro-intestinaux chez les chevaux issus d'exploitations familiales du département d'Alba.

L'étude a été menée sur une période de deux ans (mars 2022 – septembre 2024) à partir d'échantillons collectés chez des équidés provenant de 26 localités du département d'Alba, dont la plupart sont situées dans des zones de plateau ou de plaine alluviale.

Au cours de l'étude, 517 échantillons de fèces ont été recueillis, représentant 7,38 % des quelque 7 000 équidés enregistrés dans le département d'Alba.

Les équidés inclus dans l'étude (mâles, n = 245 ; femelles, n = 272) appartenaient aux races suivantes : Croisés (n = 361), Demi-trait (n = 78), Frison (n = 18), Tinker (n = 3), Pinto (n = 3), Furioso (n = 6), Lipizzan (n = 25), Ardennais (n = 1), Nonius (n = 13), Gidran (n = 3), Hucul (n = 2) et Pur-sang anglais (n = 4). Ils ont été répartis en trois catégories d'âge : jeunes (6 mois – 5 ans), adultes (> 5 ans – 10 ans) et âgés (> 10 ans – 15 ans). L'âge des animaux a été déterminé sur la base de la dentition.

Pour chaque individu, entre 30 et 50 g de fèces fraîches ont été prélevés. Les échantillons ont été traités selon les méthodes de Willis et de McMaster.

Afin d'évaluer d'éventuelles différences statistiquement significatives entre les données recueillies et la prévalence de l'infestation, le test de Fisher a été utilisé – GraphPad QuickCalcs (2025) (GraphPad Software, Inc.).

Sur les 517 échantillons de fèces examinés, 462 (89,36 %) se sont révélés positifs pour des infestations parasitaires gastro-intestinales. La prévalence des strongles digestifs s'est avérée prédominante, avec 326/517 (63,06 %), suivie de *Parascaris equorum* (201/517 ; 38,88 %) et d'*Anoplocephala* spp. (93/517 ; 17,99 %) (Fig. 3.3–3.6), tandis que *Strongyloides westeri* (36/517 ; 6,96 %) et *Oxyuris equi* (27/517 ; 5,22 %) étaient les moins représentés. En outre, la plupart des équidés positifs aux infestations présentaient un polyparasitisme (383/462 ; 82,90 %).

4. Prévalence des parasites gastro-intestinaux chez les ânes du département d'Alba

L'objectif de cette étude était d'identifier les parasites intestinaux chez les ânes de la partie nord-est du département d'Alba.

Des échantillons de fèces ont été prélevés sur 29 ânes provenant de cinq localités (Ocna

Mureș, Unirea, Lunca Mureșului, Noșlac et Fărău) situées dans un rayon de 10 km autour d'Ocna Mureș, au centre de la Roumanie. Leur âge variait de 11 mois à 18 ans.

Les échantillons ont été analysés à l'aide de la méthode quantitative de McMaster.

L'évaluation statistique des différences entre les données recueillies et la prévalence de l'infestation a été réalisée à l'aide du test de Fisher – GraphPad QuickCalcs (2025) (GraphPad Software, Inc.).

Sur les 29 ânes examinés, 27 (93,10 %) se sont révélés parasités. Le polyparasitisme a également été fréquemment observé.

Les espèces les plus répandues étaient les strongles digestifs (en particulier les cyathostomins), avec une prévalence de 93,10 %. Des oncosphères ont été éliminées par 6 ânes (20,68 %), tandis que des œufs de *Parascaris equorum* n'ont été identifiés que chez quatre individus (13,79 %). Des œufs de *Strongyloides westeri* et d'*Oxyuris equi* ont été observés chacun chez trois individus (10,34 % chacun).

Les ânes les plus intensément parasités par les strongles digestifs provenaient de Fărău, avec une moyenne de 1125 OPG. *P. equorum* a été identifié dans trois localités, avec la charge parasitaire la plus élevée enregistrée à Lunca Mureșului (350 OPG). Dans le cas de *S. westeri*, l'élimination la plus significative d'éléments parasitaires a été observée à Noșlac (300 OPG).

Les strongles digestifs représentaient l'espèce ayant la prévalence la plus élevée (93,10 %), avec des différences statistiquement significatives par rapport aux autres espèces parasitaires identifiées (*Parascaris equorum*, *Strongyloides westeri*, cestodes et *Oxyuris equi*).

5. Caractéristiques morphologiques des larves infestantes de strongles digestifs

L'objectif de la présente étude était d'identifier les types de larves L3 obtenues à partir de cultures larvaires issues d'échantillons fécaux de chevaux du département d'Alba.

Pour atteindre cet objectif, 50 à 100 grammes de fèces fraîches ont été prélevés sur les chevaux mentionnés dans l'étude précédente, en particulier ceux présentant les charges parasitaires les plus élevées (plus de 2000 OPG).

L'étude a porté sur un total de 167 larves, incluant à la fois des strongles grands et petits.

Au sein du genre *Cyathostomum sensu lato*, les huit types larvaires connus ont été identifiés, présentant 6, 7 ou 8 cellules intestinales. Il a été facilement constaté que l'abondance larvaire était dominée par le type A (41,91 %). Celui-ci était suivi en proportion par le type D (14,97 %), le type C (10,78 %) et le type B (8,98 %). Les moins représentés étaient les types E et H, chacun représentant seulement 0,59 %.

Parmi les autres types de larves de strongles digestifs, les proportions les plus élevées ont été enregistrées pour *Triodontophorus* spp. et *S. edentatus*, tous deux à 2,99 %, suivis de *S. vulgaris* avec 2,39 %. La plus faible représentation a été observée pour *Gyalocephalus capitatus* et *Poteriostomum* spp., tous deux à 0,59 %, tout comme les types E et H de cyathostomins.

6. Identification et cartographie des espèces de cyathostomes rencontrées dans le département d'Alba

L'objectif de ce chapitre était d'évaluer la composition spécifique des strongles présents chez les équidés des localités d'Unirea, Fărău, Lopadea Nouă, Meteș et Vințu de Jos, dans le département d'Alba.

Pour l'identification des espèces de strongles présentes chez les équidés du département d'Alba, cinq chevaux ont été sélectionnés. Tous ont été déparasités au fenbendazole (Panacur 10 %, 5 mg/kg), et à partir de 12 heures après l'administration, toutes les fèces émises pendant une période de 24 heures ont été collectées.

Dans les cinq localités étudiées, 18 espèces de strongles ont été identifiées.

Un total de 11 genres de strongles digestifs ont été recensés, le plus représenté étant *Cylicocyclus* avec quatre espèces, suivi de *Triodontophorus* avec trois espèces, puis de *Coronocyclus* et *Strongylus*, chacun avec deux espèces. Les autres genres n'étaient représentés que par une seule espèce.

Au niveau des genres, *Cylicocyclus* était le plus prévalent, représentant près d'un tiers (31,53 %), suivi dans un ordre décroissant par *Triodontophorus* (20,44 %) et *Coronocyclus* (16,72 %). Les genres les moins représentés étaient *Cylicodontophorus* (1,75 %), *Poteriostomum* (0,90 %) et *Oesophagodontus* (0,62 %).

7. Recherches sur le phénomène de résistance aux benzimidazoles dans un élevage d'ânes du département de Timiș

L'objectif de cette étude était d'évaluer la composition spécifique des helminthes présents chez les ânes de Parța, dans le département de Timiș, et d'examiner l'apparition du phénomène de résistance aux anthelminthiques de la famille des benzimidazoles, les plus couramment utilisés dans le déparasitage des équidés.

À l'automne 2024, une population d'ânes de Parța, dans le département de Timiș, a été examinée par coproparasitologie.

Un total de 14 animaux a été sélectionné de manière aléatoire et examiné par coproscopie, 7 étant attribués au groupe témoin et 7 autres au groupe testé.

Entre 50 et 150 g de fèces fraîches ont été prélevés chez les individus étudiés et traités selon les méthodes de Willis et de McMaster.

Des tests ont été utilisés pour détecter la résistance aux anthelminthiques, tels que le test de réduction du nombre d'œufs dans les fèces (FECRT) et la réaction en chaîne par polymérase (PCR).

Pour le FECRT, des échantillons de fèces ont été prélevés au jour 0 avant le traitement, puis aux jours 7 et 14 après le traitement. Le pourcentage de réduction du nombre d'œufs fécaux peut également être calculé à l'aide de trois méthodes alternatives: celle décrite par Dash et al. (1988), celle décrite par Kochapakdee et al. (1995) et celle décrite par Cabaret et Berrag (2004).

Parmi les trois méthodes de calcul, les différences sont minimes et n'affectent pas le résultat; par conséquent, la méthode classique du FECRT reste le « gold standard » pour l'identification de la résistance aux anthelminthiques.

L'essai PCR a été réalisé selon la technique décrite par Gasser et al. (1993), avec quelques légères modifications, en utilisant le gène ITS2 et les amorces NC1 (ACGTCTGGTTCAGGGTTGTT) et NC2 (TTAGTTTCTTTTCCTCCGCT).

La chimiorésistance aux benzimidazoles a également été déterminée par réaction en chaîne par polymérase (PCR). Les amorces utilisées pour l'identification de la résistance aux anthelminthiques étaient: Reverse – CN30R (non spécifique) avec la séquence 5' AGC AGA GAG GGG AGC AAA GCC AGG 3', et Forward – CN24FS (spécifique des allèles sensibles) avec la séquence 5' GGT TGA AAA TAC AGA CGA GAC TTT 3' ou CN25FR (spécifique des allèles résistants) avec la séquence 5' GGT TGA AAA TAC AGA CGA GAC TTA 3'.

L'identification des strongles résistants aux benzimidazoles a été réalisée à l'aide du jeu d'amorces CN25FR/CN30R, tandis que le jeu d'amorces CN24FS/CN30R a été utilisé pour les strongles sensibles aux benzimidazoles.

Tous les échantillons analysés ont donné une réponse positive à environ 400 pb. L'analyse BLAST de chaque échantillon provenant des puits 2 à 11 a démontré la présence de plusieurs espèces, comme suit: puits 2 = *Cylicocycclus insigne*, correspondant à la séquence JQ906419.1; puits 3 = *Cylicocycclus nassatus*, correspondant à la séquence MT193649.1; puits 4 = *Cylicocycclus nassatus*, correspondant à la séquence MF489227.1 ; puits 5 = *Coronocycclus labratus*, correspondant à la séquence KY747449.2; puits 6 = *Cylicocycclus nassatus*, correspondant à la séquence MF489227.1; puits 7 = *Coronocycclus labiatus*, correspondant à la séquence JN786948.2; puits 8 = *Cylicocycclus auriculatus*, correspondant à la séquence JQ906415.1 ; puits 9 = *Cylicocycclus auriculatus*, correspondant à la séquence JQ906415.1; puits

10 = *Cyathostomum montgomeryi*, correspondant à la séquence MZ435572.1; et puits 11 = *Cyathostomum montgomeryi*, correspondant à la séquence MZ435572.1.

Parmi les 10 échantillons testés, six espèces ont été identifiées au niveau moléculaire : trois *Cylicocyclus nassatus* (l'une des espèces de cyathostomes les plus répandues), deux *Cylicocyclus auriculatus* et deux *Cyathostomum montgomeryi* (signalé pour la première fois dans l'ouest de la Roumanie), ainsi que *Cylicocyclus insigne*, *Coronocyclus labratus* et *Coronocyclus labiatus*.

Les échantillons susceptibles de présenter une résistance aux benzimidazoles comprenaient les espèces *Cylicocyclus nassatus*, *Cylicocyclus auriculatus* et *Cyathostomum montgomeryi*, tandis que les trois autres espèces, *Cylicocyclus insigne*, *Coronocyclus labratus* et *Coronocyclus labiatus*, n'ont pas montré cette susceptibilité.