



MD 1231 Y 2018.02.28

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1231** (13) **Y**
(51) Int.Cl.: *A01N 63/00* (2006.01)
A61D 99/00 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ

În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție de scurtă durată, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului

(21) Nr. depozit: s 2017 0056
(22) Data depozit: 2017.04.26

(45) Data publicării hotărârii de
acordare a brevetului:
2018.02.28, BOPI nr. 2/2018

(71) Solicitant: INSTITUTUL DE ZOOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD
(72) Inventatori: TODERAȘ Ion, MD; ERHAN Dumitru, MD; GHERASIM Elena, MD; RUSU Ștefan, MD
(73) Titular: INSTITUTUL DE ZOOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD

(54) Metodă de profilaxie a fasciolozei la rumegetoare

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la parazitologie, și anume la o metodă de profilaxie a fasciolozei la rumegetoare.

Metoda, conform invenției, constă în distribuirea pe pășunile contaminate cu *Fasciola hepatica*, pe care s-a stabilit prezența speciilor de melci *Limnea truncatula*, a

2
miracidiilor de *Haplometra cylindracea*, într-un număr care asigură un raport al miracidiilor de *Fasciola hepatica* și *Haplometra cylindracea* de (1...2):1.

Revendicări: 1

MD 1231 Y 2018.02.28

(54) Method for prophylaxis of fasciolosis in ruminants**(57) Abstract:**

1
The invention relates to parasitology, namely to a method for prophylaxis of fasciolosis in ruminants.

The method, according to the invention, consists in the distribution on the pastures contaminated with *Fasciola hepatica*, on which the presence of snails of the *Limnea*

2
truncatula species was determined, of *Haplometra cylindracea* miracidia, in a number that provides a ratio of *Fasciola hepatica* and *Haplometra cylindracea* miracidia of (1...2):1.

Claims: 1

(54) Метод профилактики фасциолеза у жвачных**(57) Реферат:**

1
Изобретение относится к паразитологии, а именно к методу профилактики фасциолеза у жвачных.

Метод, согласно изобретению, состоит в распределении на пастбищах зараженных *Fasciola hepatica*, на которых установлено присутствие улиток вида *Limnea truncatula*,

2
мирацидий *Haplometra cylindracea*, в численности обеспечивающей соотношение мирацидий *Fasciola hepatica* и *Haplometra cylindracea* (1...2):1.

П. формулы: 1

Descriere:
(Descrierea se publică în redacția solicitantului)

- 5 Invenția se referă la parazitologie, și anume la o metodă de profilaxie a fasciolozei la rumegătoare.
- Cele mai frecvente maladii înregistrate la rumegătoare sunt endoparazitozele, care provoacă acestora prejudicii economice majore. Una dintre cele mai frecvente boli parazitare la rumegătoare este fascioloza, provocată de către specia de trematode
- 10 *Fasciola hepatica*. Cercetările au demonstrat că bovinele adulte sunt infestate cu *Fasciola hepatica*, în dependență de tehnologia de întreținere și zona geografică în 34,8...48,2% cazuri (Zgardan Eugen, Erhan Dumitru, Rusu Ștefan, Chihai Oleg, Bondari Lidia. Epizootologia și prejudiciile economice provocate de maladiile parazitare la bovine în Republica Moldova. Materialele Simpozionului științific internațional „Agricultura modernă – realizări și perspective” dedicat aniversării a 75
- 15 ani ai Universității Agrare de Stat din Moldova. Medicină Veterinară. Chișinău, 2008, vol. 19, p. 4-9).
- În organismul bovinelor infestate cu *Fasciola hepatica* se produc modificări considerabile în ficat și țesutul muscular a conținutului de vitamine (A, E, B₁, B₂, C),
- 20 micro- și macroelemente (Ca, Mn, Na, K, Fe, P), care duc la diminuarea considerabilă a calității acestor produse (Erhan D. Conținutul de vitamine, micro- și macroelemente în ficat și țesutul muscular la bovinele infestate cu fasciole și dicrocclii. Al VIII-lea Simpozion Național de Parazitologie cu participare Internațională la tema: „Paraziți și parazitoze la om, animale, plante și mediu”, 28-29 mai 1998, Craiova. Revista Romană de Parazitologie, 1998, vol. VIII, nr. 1, p. 82-83).
- 25 Infestarea rumegătoarelor are loc prin consumul adolescarilor de *Fasciola hepatica* (forma infestantă), fie cu pășunatul sau apa de băut din biotopuri favorabile la fascioloză. Prezența și circuitul agentului parazitar în organismul rumegătoarelor provoacă schimbări esențiale ale metabolismului, sistemului digestiv, scade capacitatea de asimilare a hrănilor, ceea ce duce la slăbirea organismului, scăderea productivității și a sporului zilnic în greutate, iar adeseori la decese. Rumegătoarele sunt gazde definitive ale speciei *Fasciola hepatica*, iar elaborarea procedurii de
- 30 combatere biologică a fasciolozei la rumegătoare constituie o problemă importantă fundamentală, dar și aplicativă, deoarece în ciclul de dezvoltare a speciei *Fasciola hepatica* participă unele specii de moluște, care constituie o sursă importantă de hrană pentru amfibieni și care la rândul lor pot fi gazde definitive și facultative în ciclul de dezvoltare a diverselor specii de helminți (*Haplometra cylindracea*, *Alaria alata*, *Spirometra erinacei-europaei* etc.), periculoși atât pentru animale, cât și pentru om (Euzebey J. Les zoonozes parasitaires d'origine amphibienne et ophidienne. En: Sci. Vet. Med. 1984, vol. 86, nr. 3, p. 71-75).
- 40 Multiplă acțiune orientată spre mărirea productivității calitative și cantitative la rumegătoare nu vor fi eficiente, până când nu vor fi întreprinse măsuri concrete de combatere a fasciolozei, care are un impact negativ asupra acestora.
- Sunt cunoscute metodele clasice medicamentoase de combatere a fasciolozei la rumegătoare [1].
- 45 De asemenea sunt cunoscute metode de combatere a fasciolozei la rumegătoare prin administrarea antihelminticelor: Albendazol, Rombendazol, Ivomec-F ș.a. [2]. Trebuie de menționat că aceste metode au un șir de neajunsuri: tratamentul medicamentos implică cheltuieli și are o acțiune toxică și imunodepresantă asupra organismului tratat. Totodată, modul de utilizare a acestor preparate pe cale orală prezintă o dificultate pentru administrare la un număr mare de animale. Ca rezultat al deparazitării prin administrarea antihelminticelor, după o scurtă perioadă de timp, sunt eliminate în mediul exterior (apă, masa vegetală) formele parazitare (ouă), care apoi contribuie la infestarea și reinfestarea animalelor.
- 55 Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unei metode eficiente, inofensive, necostisitoare, dar și simple de profilaxie a fasciolozei la rumegătoare, care să asigure sporirea eficacității procesului de combatere biologică a fasciolozei.

Invenția soluționează problema prin aceea că se propune o metodă de profilaxie a fasciozei la rumeșătoare, care constă în distribuirea pe pășunile contaminate cu *Fasciola hepatica*, pe care s-a stabilit prezența speciilor de melci *Limnea truncatula*, a miracidiilor de *Haplometra cylindracea*, într-un număr care asigură un raport al miracidiilor de *Fasciola hepatica* și *Haplometra cylindracea* de (1...2):1.

5 Rezultatul tehnic al prezentei invenții constă în profilaxia fasciozei la rumeșătoare, care asigură sporirea eficacității procesului de combatere biologică a fasciozei cu utilizarea amfibienilor.

10 Rezultatul tehnic obținut este datorat utilizării amfibienilor în procedeul de profilaxie a fasciozei. Astfel, speciile de amfibieni *Rana ridibunda*, *Rana lessonae*, *Rana temporaria*, *Bufo viridis* populează cele mai diverse biotopuri, inclusiv bazinele acvatice, unde are loc dezvoltarea ciclului biologic al *Fasciolei hepatica*. În ciclul de dezvoltare a speciei *Fasciola hepatica* participă melcii din genul *Lymnaea*, în calitate de gazde intermediare. Aceștea duc un mod de viață acvatic și semiacvatic, astfel încât se pot întâlni în ape stătătoare sau mediu umed (mlăștini), mediu de trai favorabil și pentru amfibieni. Potrivit investigațiilor helmintologice efectuate la amfibieni, s-a stabilit infestarea acestora în 78% din cazuri cu specia de trematodă *Haplometra cylindracea* Zeder, 1800 din familia *Plagiorchiidae*, care este antagonistă celei de *Fasciola hepatica*. Astfel, relațiile antagoniste dintre aceste două specii de agenți parazitari se finalizează cu întreruperea ciclului de dezvoltare a trematodei *Fasciola hepatica* și ulterior întreruperea lanțului de vehiculare a acesteia în biotopuri.

20 Din organismul animalelor infestate cu *Fasciola hepatica* (bovine), în mediul înconjurător (pășune) se elimină ouăle, care ajung în melcul *Limnea (Galba truncatula)* - melc de apă dulce, care la temperatura optimă (18...25 grade) trăiește în zonele mlăștinoase. Dacă oul a căzut într-o zonă umedă, în 9...14 zile iese larva miracidium. Larva trăiește câteva ore, maximal 2...3 zile, seamănă cu un ciliat, prezintă cili, care se mișcă foarte rapid și au un tactism deosebit pentru melci. Aceasta este o etapă obligatorie în evoluția helmintului, în afara căreia larvele nu pot deveni contagioase pentru bovine.

30 În melc miracidiumul se transformă în sporocist 1. Acesta se divide în sporocist 2, apoi în redie, redii fiice, migrează în hepatopancreasul melcului, unde se transformă în cercar. Cercarul are format tubul digestiv și prezintă o codiță. Dintr-un melc, în general, se elimină câteva sute de cercarii. După ce ies din melc cercariile se fixează pe iarbă, cu ajutorul glandelor chistogene, secretă un înveliș și se transformă în larva închistată sub denumirea de adolescar. Tot ciclul durează 2...2,5 luni. Adolescarii sunt foarte rezistenți în mediu (ei sunt forma chistică), rezistă pe iarbă până toamna (boala are frecvența mai mare toamna). Bovinele se molipsesc cu *Fasciola hepatica* fie când pasc iarba cu cercarii pe biotopuri umede, fie prin consumul de fân deja infestat. Ajunsă în ficat traversează capsula Glisson, care este ciuruită prin locurile pe unde traversează fasciolele tinere datorită acțiunii mecanice (ruperi de celule) și toxice. Organismul-gază (bovine) începe să elimine ouă după 2...3 luni. Ciclul biologic total este de 5...6 luni.

45 Procedeul s-a realizat atât în condiții de teren, cât și în condiții de laborator. Inițial au fost obținute miracidii de *Fasciola hepatica* și *Haplometra cylindracea*. Pentru realizarea scopului propus de la animalele sacrificate la abator s-au colectat fasciole adulte, de la care s-au obținut ouă. În termostat la temperatura de 24...26° C din ouă, peste 10 zile, s-au obținut miracidii de *Fasciola hepatica*.

50 Miracidiile de *Haplometra cylindracea* au fost obținute prin examinarea tuturor organelor interne ale amfibienilor (*Rana ridibunda*, *Rana lessonae*, *Rana temporaria*, *Bufo viridis*) aplicând metoda standard propusă de către academicianul Skrjabin (1928). Exemplarele de *Haplometra cylindracea* au fost menținute vii în termostat, la o temperatură constantă de 37°C, în soluție fiziologică.

55 Pentru realizarea procedurii de combatere a fasciozei în condiții de laborator experiențele au fost efectuate în 3 vase de sticlă de mărimi identice și după aceeași schemă.

În primul vas de sticlă, cu un volum de 0,5 L de apă, au fost introduse 50 de miracidii de *Fasciola hepatica* și 50 de miracidii de *Haplometra cylindracea*, în raport de 1:1.

În al doilea vas de sticlă, la fel cu un volum de 0,5 L de apă, s-au introdus 50 de miracidii de *Fasciola hepatica* și 25 de miracidii de *Haplometra cylindracea*, în raport de 2:1.

5 În al treilea vas de sticlă, cu un volum de 0,5 L de apă, au fost introduse doar miracidii de *Fasciola hepatica* (lot martor).

În decurs de 14 zile, la intervale egale de timp (T=24 h) s-a calculat numărul miracidiilor de *Fasciola hepatica* și de *Haplometra cylindracea*.

Rezultatele experiențelor sunt prezentate în tabelul 1.

10 În timpul experiențelor, în vasele nr. 1 și nr. 2 s-au obținut rezultate semnificative începând cu a doua zi de contact între speciile *Fasciola hepatica* și *Haplometra cylindracea*. Ca rezultat în vasul nr. 1, în care speciile s-au introdus în raport de 1:1, miracidiile de *Fasciola hepatica* au fost absente din ziua a 8-a de cercetare. În vasul nr. 2, în care speciile s-au introdus în raport de 2:1, miracidiile de *Fasciola hepatica* au fost absente din ziua a 9-a de cercetare. În vasul nr. 3 (martor), practic nu s-a

15 înregistrat nici o modificare numerică a miracidiilor de *Fasciola hepatica*, fapt ce ne demontrează prezența acesteia în lipsa speciei antagoniste *Haplometra cylindracea*.

Tabelul 1

Rezultatul acțiunii antagoniste a miracidiilor de *Haplometra cylindracea* asupra celor de *Fasciola hepatica*

Nr. zilei	Vasul nr. 1		Vasul nr. 2		Vasul nr. 3	
	Nr. de miracidii <i>F.hepatica</i>	Nr. de miracidii <i>H.cylindracea</i>	Nr. de miracidii <i>F.hepatica</i>	Nr. de miracidii <i>H.cylindracea</i>	Nr. de miracidii <i>F.hepatica</i>	Nr. de miracidii <i>H.cylindracea</i>
1	50	50	50	25	50	-
2	49	50	48	25	50	-
3	32	50	40	25	50	-
4	24	50	35	25	50	-
5	16	50	22	25	50	-
6	7	50	14	25	50	-
7	3	50	8	25	50	-
8	0	50	2	25	50	-
9	0	50	0	25	50	-
10	0	49	0	25	50	-
11	0	49	0	25	50	-
12	0	49	0	25	49	-
13	0	49	0	24	49	-
14	0	49	0	24	49	-

20

Experiențele în teren au fost realizate în perioada anului 2016 în gospodăria particulară de creștere a bovinelor a firmei SRL „STRAPID”, r-nul Călărași.

25 Pentru realizarea scopului propus s-au investigat helmintologic 100 de capete de bovine, cu vârste de 3...5 ani, prin metoda coprologică – Darling. Ca rezultat al acestor investigații, s-a stabilit infestarea bovinelor în 35,0% din cazuri cu *Fasciola hepatica*.

Primăvara în gospodăria favorabilă la fascioloză, terenurile pe care urmau să pășuneze bovinele au fost investigate parazitologic și s-a stabilit prezența melcilor din genul *Lymnaea*. Acest teren a fost împărțit în două loturi.

30 Pe primul lot experimental au fost introduse în medie 1000 specimene de miracidii ale speciei *Haplometra cylindracea*. Pe al doilea lot martor, nu au fost introduse miracidii de *Haplometra cylindracea*.

35 La fel și bovinele au fost repartizate în două loturi a câte 50 de capete. Cercetările s-au efectuat la bovine pe parcursul întregului an 2016: primăvara - până la începerea perioadei de pășunat și toamna - înainte de trecerea lor la stabulație. S-au preluat probe coprologice, în scopul stabilirii nivelului de infestare cu fasciole. Rezultatele experiențelor sunt prezentate în tabelul 2.

În decursul perioadei de cercetare a nivelului de infestare cu *Fasciola hepatica* la bovinele care au pășunat pe Lotul 1 și Lotul 2 s-au stabilit valori diferite.

MD 1231 Y 2018.02.28

6

5 Așadar, în perioada lunii a V-a, la bovinele care au pășunat pe Lotul 1 și Lotul 2 s-a stabilit infestarea cu *Fasciola hepatica* în 17,0% și, respectiv, 18,0% din cazuri. Spre deosebire de cercetările efectuate pe perioada lunii a V-a, în luna a X-a, la bovinele care au pășunat pe Lotul 1, în care au fost introduse miracidii de *Haplometra cylindracea*, s-a stabilit o menținere a nivelului de infestare cu *Fasciola hepatica* (19,0% din cazuri), pe când la bovinele care au pășunat pe Lotul 2 (lotul martor), în care nu au fost introduse miracidii de *Haplometra cylindracea*, nivelul de infestare a bovinelor cu *Fasciola hepatica* s-a majorat considerabil și s-a stabilit infestarea lor în 84,0% din cazuri.

10

Tabelul 2

Rezultatul utilizării miracidiilor de *Haplometra cylindracea* în profilaxia fasciozei la rumegătoare

Lotul	Numărul bovinelor, n	<i>Haplometra cylindracea</i> introduse, n	Nivelul de infestare cu <i>Fasciola hepatica</i> , %	
			Luna V-a	Luna X-a
Lot 1- experimental	50	1000	17,0	19,0
Lot 2 - martor	50	-	18,0	84,0

15 Invenția are următoarele avantaje: profilaxia fasciozei la rumegătoare cu un grad scăzut de dificultate, lipsa acțiunilor toxice și imunodepresante a preparatelor de origine chimică și minimum de cheltuieli.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Абдуладзе К.И., Демидов Н.В., Непоклонов А.А. Паразитология и паразитарные болезни сельскохозяйственных животных. Москва, 1990
2. Демидов Н.В. Гельминтозы животных. Справочник. Москва, Агропромиздат, 1987, p. 113-116

(57) Revendicări:

Metodă de profilaxie a fasciozei la rumegătoare, care constă în distribuirea pe pășunile contaminate cu *Fasciola hepatica*, pe care s-a stabilit prezența speciilor de melci *Limnea truncatula*, a miracidiilor de *Haplometra cylindracea*, într-un număr care asigură un raport al miracidiilor de *Fasciola hepatica* și *Haplometra cylindracea* de (1...2):1.