

UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ
„ION IONESCU DE LA BRAD” IAȘI, ROMÂNIA
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ
ȘCOALA DOCTORALĂ DE MEDICINĂ VETERINARĂ
DOMENIUL DE DOCTORAT MEDICINĂ VETERINARĂ
SPECIALIZAREA BOLI INFECȚIOASE

TEZĂ DE DOCTORAT

**Doctorand,
Iuliana MIHAI**

**Conducător de doctorat,
Prof. Univ. Dr. Elena VELESCU**

2019

„ION IONESCU DE LA BRAD” UNIVERSITY OF AGRICULTURAL
SCIENCES AND VETERINARY MEDICINE OF IAȘI, ROMÂNIA
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE
DOCTORAL SCHOOL OF VETERINARY MEDICINE
DOCTORAL FIELD VETERINARY MEDICINE
SPECIALITY INFECTIOUS DISEASES

DOCTORAL THESIS

**PhD student,
Iuliana MIHAI**

**PhD coordinator,
Prof. Univ. Dr. Elena VELESCU**

2019

UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ
„ION IONESCU DE LA BRAD” IAȘI, ROMÂNIA
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ
ȘCOALA DOCTORALĂ DE MEDICINĂ VETERINARĂ
DOMENIUL DE DOCTORAT MEDICINĂ VETERINARĂ
SPECIALIZAREA BOLI INFECȚIOASE

CERCETĂRI PRIVIND ARTRITA-ENCEFALITA CAPRINĂ ÎN ESTUL ROMÂNIEI

**Teză pentru obținerea titlului de Doctor în științe
Domeniul Medicină Veterinară**

**Doctorand,
Iuliana MIHAI**

**Conducător de doctorat,
Prof. Univ. Dr. Elena VELESCU**

2019

„ION IONESCU DE LA BRAD” UNIVERSITY OF AGRICULTURAL
SCIENCES AND VETERINARY MEDICINE OF IAȘI, ROMÂNIA
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE
DOCTORAL SCHOOL OF VETERINARY MEDICINE
DOCTORAL FIELD VETERINARY MEDICINE
SPECIALITY INFECTIOUS DISEASES

RESEARCH REGARDING ARTHRITIS-ENCEPHALITIS IN THE EAST OF ROMANIA

**Thesis for obtaining the title of Doctor of Sciences
Domain of Veterinary Medicine**

**PhD student,
Iuliana MIHAI**

**PhD coordinator,
Prof. Univ. Dr. Elena VELESCU**

2019

CUPRINS

INTRODUCERE	7	
REZUMAT	9	
PARTEA I. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	17	
CAPITOLUL 1. DATE BIBLIOGRAFICE PRIVIND ISTORICUL ȘI ETIOLOGIA		
ARTRITEI ENCEFALITEI CAPRINE (CAE).....	17	
1.1 Istoricul și răspândirea virusului artritei encefalitei caprine (CAEV)	17	
1.2 Încadrarea taxonomică a virusului.....	19	
1.3 Răspunsul imun al organismului animal la infecția cu virusul artritei encefalitei caprine	29	
1.4 Rezistența virusului la factorii de mediu	32	
1.5 Cultivarea virusului	32	
CAPITOLUL 2. EPIDEMIOLOGIA ȘI PATOGENEZA INFECȚIEI CU VIRUSUL		
ARTRITEI ENCEFALITEI CAPRINE (CAEV).....	33	
2.1 Caractere epidemiologice.....	33	
2.2 Receptivitate.....	33	
2.2.1 Factori intrinseci	33	
2.2.2 Factori extrinseci	33	
2.3 Sursele de infecție și căile de pătrundere, transmitere și contaminare.....	34	
2.4 Dinamica epidemiologică	35	
2.5 Mecanismul patogenetic	36	
CAPITOLUL 3. SIMPTOMATOLOGIA ȘI MORFOPATOLOGIA ARTRITEI		
ENCEFALITEI CAPRINE.....	39	
3.1 Tabloul clinic	39	
3.2 Tabloul anatomopatologic	40	
CAPITOLUL 4. DIAGNOSTIC, SUPRAVEGHERE ȘI CONTROL ÎN ARTRITA		
ENCEFALITA CAPRINĂ.....	42	
4.1 Diagnosticul diferențial	42	
4.2 Diagnosticul de laborator.....	45	
4.3 Supraveghere și control	49	
PARTEA A II-A CERCETĂRI PROPRII.....	55	
CAPITOLUL 5. CADRUL ORGANIZATORIC ȘI INSTITUȚIONAL ÎN CARE S-AU DESFĂȘURAT CERCETĂRILE		56
5.1 Cadrul natural.....	56	
5.2 Cadrul organizatoric și instituțional	57	
CAPITOLUL 6. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII.....		62
CAPITOLUL 7. OBSERVAȚII EPIDEMIOLOGICE PRIVIND PATOLOGIA		
INFECȚIOASĂ A CAPRINELOR ÎN ESTUL ROMÂNIEI	64	
7.1 Scopul cercetărilor.....	64	
7.2 Material și metodă	64	
7.3 Rezultate și discuții.....	65	
7.4 Concluzii parțiale	79	

<i>CAPITOLUL 8. CERCETĂRI PRIVIND SEROPREVENȚA ARTRITEI ENCEFALITEI CAPRINE ÎN ESTUL ROMÂNIEI.....</i>	80
8.1 Scopul cercetărilor.....	80
8.2 Material și metodă.....	80
8.3. Rezultate și discuții	82
8.4 Concluzii parțiale	87
<i>CAPITOLUL 9. INVESTIGAȚII PRIVIND ASPECTELE CLINICE ȘI PARACLINICE ÎN ARTRITA ENCEFALITA CAPRINĂ LA CAPRINE ÎN ESTUL ROMÂNIEI.....</i>	89
9.1 Aspecte clinice	89
9.1.2 Material și metodă	90
9.1.2 Rezultate și discuții.....	90
9.1.3 Concluzii parțiale.....	104
9.2 Aspecte imagistice.....	105
9.2.1 Material și metodă	105
9.2.2 Rezultate și discuții.....	105
9.2.3 Concluzii parțiale.....	111
<i>CAPITOLUL 10. CERCETĂRI PRIVIND ASPECTELE MORFOPATOLOGICE ÎN ARTRITA ENCEFALITA CAPRINĂ LA CAPRINE ÎN ESTUL ROMÂNIEI</i>	112
10.1 Aspecte morfopatologice	112
10.1.1 Material și metodă	113
10.1.2 Rezultate și discuții.....	113
10.1.3 Concluzii parțiale.....	119
10.2 Aspecte histopatologice	120
10.2.1 Material și metodă	120
10.2.2 Rezultate și discuții.....	122
10.2.3 Concluzii parțiale.....	137
<i>CAPITOLUL 11. CERCETĂRI PRIVIND CONFIRMAREA DIAGNOSTICULUI ARTRITEI ENCEFALITEI CAPRINE.....</i>	139
11.1 Cercetări privind diagnosticul artritei encefalitei caprine, de detecție a acidului nucleic, prin metoda nested PCR	139
11.1.1 Material și metodă	139
11.1.2 Rezultate și discuții.....	143
11.1.3 Concluzii parțiale.....	146
11.2 Caracterizarea tulpinilor virale identificate în focarele de artrită encefalită caprină.....	146
11.2.1 Material și metodă	147
11.2.2 Rezultate și discuții.....	147
11.2.3 Concluzii parțiale.....	151
<i>CAPITOLUL 12. STRATEGIA DE SUPRAVEGHERE ȘI CONTROL A INFECȚIEI CU VIRUSUL ARTRITEI ENCEFALITEI CAPRINE</i>	152
12.1 Scopul cercetărilor.....	152

12.2 Material și metodă	152
12.3 Rezultate și discuții.....	153
12.3 Concluzii parțiale	156
CAPITOLUL 13. CONCLUZII FINALE	157
BIBLIOGRAFIE	161
ANEXA 1. LISTA ABREVIERILOR	175
ANEXA 2. LISTA TABELELOR	176
ANEXA 3. LISTA FIGURILOR	177
ANEXA 4. LISTA PROBELOR.....	181
ANEXA 5. LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE.....	200

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	7
ABSTRACT	9
FIRST PART CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	17
<i>CHAPTER 1. BIBLIOGRAPHY DATA ABOUT HISTORY AND ETIOLOGY OF CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS (CAE).....</i>	17
1.1 The history of caprine arthritis encephalitis	17
1.2 Taxonomic classification of the virus.....	19
1.3 The immune response of the animal to the infection with <i>caprine arthritis encephalitis virus</i>	29
1.4 Virus resistance to enviromental factors.....	32
1.5 Cultivation of the virus.....	32
<i>CHAPTER 2. EPIDEMIOLOGY AND PATHOGENESIS OF INFECTION WITH CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS VIRUS (CAEV).....</i>	33
2.1 Epidemiological characteristics.....	33
2.2 Receptivity.....	33
2.2.1 Intrinsec factors.....	33
2.2.2 Extrinsec factors.....	33
2.3 The sources of infection and routes of entry, transmission and contamination.....	34
2.4 Epidemiological dynamics.....	35
2.5 The pathogenic mechanism	36
<i>CHAPTER 3. CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS SYMPTOMATOLOGY AND MORPHOPATHOLOGY</i>	39
3.1 Clinical features.. ..	39
3.2 Anatomopathological features	40
<i>CHAPTER 4. DIAGNOSIS, SURVEILLANCE AND CONTROL ON CAPRINE ARTHRITHIS ENCEPHALITIS.....</i>	42
4.1 Differential diagnosis	42
4.2 Laboratory diagnosis.....	45
4.2 Surveillance and control.....	49
SECOND PART – OWN RESEARCH	55
<i>CHAPTER 5. THE ORGANIZATIONAL AND INSTITUTIONAL FRAMEWORK IN WHICH RESEARCH HAS BEEN CARRIED OUT</i>	56
5.1 The natural framework	56
5.2 The organizational and institutional framework	57
<i>CHAPTER 6. THE PURPOSE AND OBJECTIVES OF RESEARCH</i>	62
<i>CHAPTER 7. EPIDEMIOLOGICAL OBSERVATION REGARDING ON INFECTIOUS PATHOLOGY OF GOATS IN THE EAST OF ROMANIA.....</i>	64
7.1 Purpose of research	64
7.2 Material and method	64

7.3 Results and discussions	65
7.4 Partial conclusions	79
<i>CHAPTER 8. RESEARCH ON THE SEROPREVALENCE OF THE CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS IN THE EST OF ROMANIA</i>	<i>80</i>
8.1 Purpose of research	80
8.2 Material and method	80
8.3 Results and discussions	82
8.4 Partial conclusions	87
<i>CHAPTER 9. CLINICAL AND PARACLINICAL INVESTIGATIONS CONCERNING THE CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS AT GOATS IN THE EAST OF ROMANIA</i>	<i>89</i>
9.1 Clinical aspects	89
9.1.1 Material and method	90
9.1.2 Results and discussions	90
9.1.3 Partial conclusions	104
9.2 Imagistic aspects	105
9.2.1 Material and method	105
9.2.2 Results and discussions	105
9.2.3 Partial conclusions	111
<i>CHAPTER 10. RESEARCH CONCERNING MORPHOPATHOLOGY IN THE CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS AT GOATS IN THE EAST OF ROMANIA.....</i>	<i>112</i>
10.1 Morphopathological aspects.....	112
10.1.1 Material and method	113
10.1.2 Results and discussions	113
10.1.3 Partial conclusions	119
10.2 Histopathological aspects	120
10.2.1 Material and method	120
10.2.2 Results and discussions	122
10.2.3 Partial conclusions	137
<i>CHAPTER 11. RESEARCH CONCERNING THE CONFIRMATION OF CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS DIAGNOSIS</i>	<i>139</i>
11.1 Research on the diagnosis of caprine arthritis encephalitis, nucleic acid detection by the nested PCR method	139
11.1.1 Material and method	139
11.1.2 Results and discussions	143
11.1.3 Partial conclusions	146
11.2 Characterization of the viral strains identified in outbreaks of caprine arthritis encephalitis.....	146
11.2.1 Material and method	147
11.2.2 Results and discussions	147
11.2.3 Partial conclusions	151

<i>CHAPTER 12 STRATEGY FOR THE SURVEILLANCE AND CONTROL OF THE CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS VIRUS INFECTION.....</i>	152
12.1 Purpose of research	152
12.2 Material and method	152
12.3 Results and discussions	153
12.4 Partial conclusions	156
<i>CHAPTER 13. FINAL CONCLUSIONS</i>	157
<i>BIBLIOGRAPHY</i>	161
<i>ANNEX 1. LIST OF ABBREVIATIONS</i>	175
<i>ANNEX 2. LIST OF TABLES.....</i>	176
<i>ANNEX 3. LIST OF FIGURES.....</i>	177
<i>ANNEX 4. LIST OF SAMPLES.....</i>	181
<i>ANNEX 5. LIST OF PUBLISHED SCIENTIFIC WORKS</i>	200

INTRODUCERE

Capra domestică (*Capra aegargus hircus*) reprezintă o specie care a reușit să se impună atenției crescătorilor. La nivel mondial, comparativ cu România, creșterea caprelor este foarte populară și ocupă un rol important în industria produselor animaliere alături de cele pentru bovine și ovine contribuind la dezvoltarea acestui sector important din sfera economică și nutrițională a diferitelor popoare.

În România creșterea caprelor se face majoritar în mod tradițional, potențialul lor productiv variind în funcție de regiunea geografică, tipul de întreținere, furajul administrat, experiența proprietarului și, nu în ultimul rând, de nivelul cunoștințelor privind creșterea caprinelor. Cel mai frecvent caprele erau crescute în sistem gospodăresc, în turme mixte împreună cu ovinele, însă odată cu importul de rase specializate pentru lapte, au fost înființate și ferme de creștere intensivă.

În țara noastră, sunt majoritare două rase, cele mai numeroase fiind caprinele din rasa Carpatină, rasă autohtonă și rasa Albă de Banat care este obținută din încrucișarea dintre rasa autohtonă (Carpatină) și o rasă specializată pentru producția de lapte (Saanen).

Interesul economic acordat creșterii caprinelor derivă din capacitatea lor lactogenă superioară. Caprele sunt crescute în special pentru laptele cu calități nutriționale și terapeutice, mult mai ușor de digerat de către om, cu un conținut ridicat de proteine și vitamina A, considerat un antiinflamator natural, un stimulant al sistemului imunitar. Alte particularități biologice și economice care au impus acordarea unei atenții sporite acestei specii sunt reprezentate de prolificitatea ridicată, precocitatea și gradul mare de adaptabilitate și rezistență, ocupând areale unde resursele naturale și condițiile de climă, relief și vegetație nu permit creșterea altor specii.

La noi în țară efectivul de caprine este în continuă creștere. Comparativ cu anul 2007 când a fost raportat un număr de 865070 de caprine, în iunie 2017 era raportat un număr de 2057309 de caprine, în prezent România situându-se pe locul patru în Europa după țări cu tradiție în creșterea caprinelor cum ar fi Regatul Unit, Spania și Grecia.

Cea mai mare parte a cunoștințelor noastre cu privire la patologia infecțioasă caprină este obținută din analogia cu cea ovină și bovină, numită generic „patologia rumegătoarelor”. Comparativ cu ovinele sau bovinele, caprinele prezintă particularități anatomice și de patogeneză, fapt pentru care entitățile răspunzătoare acționează prin mecanisme specifice, determinând răspunsuri diferite.

Până în prezent, literatura de specialitate din România a menționat date științifice cu privire la evoluția efectivelor, optimizarea tehnologiilor de exploatare a caprinelor în scopul rentabilizării exploatațiilor, îmbunătățirea producției de lapte la caprele din rasa Carpatină, evaluarea parametrilor fizici și chimici pentru lapte și carne și evaluarea funcției de reproducere.

INTRODUCTION

Worldwide, as compared to Romania, goat breeding is very popular and plays an important role in the animal products industry alongside cattle and sheep, contributing to the development of this important sector in the economic and nutritional sphere of different populations.

In Romania, goat farming is traditionally dominated, their productive potential varies depending on the area, the type of maintenance, the fodder administered, the owner's experience, the level of knowledge on the growth of the goats.

In our country there are two breeds, the most numerous of which are the Carpathian goats, Alba de Banat being obtained from the cross between the Carpathian and Saanen. The main purpose of their growth is milk production and, to a lesser extent, meat production, the economic interest in raising goats derives from their superior lactogenic capacity. Other biological and economic features requiring increased attention to this species are high prolificity, precocity and high degree of adaptability and resistance to various conditions and climate, relief and harsher vegetation.

Goats are mainly grown for their milk because of their nutritional and therapeutic qualities, more easily digested by humans, high in protein and vitamin A, considered as a natural anti-inflammatory, an immune system stimulant. The goat breeding farms are not spread on Romanian territory, most of them being raised in the domestic system in flocks mixed with sheep.

In our country, the goat population is steadily increasing, compared to 2007, when 865070 goats were reported; in June 2017 there were 2057309 goats, now Romania ranks fourth in Europe after countries with tradition in raising goats, such as Great Britain, Spain and Greece.

Most of our knowledge of infectious goat pathology derives from ovine and bovine analogy and is generically called the pathology of ruminants. Compared to sheep or cattle, goats have anatomic and pathogenic features, which is why the responsible entities act through specific mechanisms, resulting in different responses.

To date, the literature has mentioned scientific data on animal development, optimization of exploitation technologies for goats for farm exploitation, improvement of milk production in Carpatina breeds, evaluation of physical and chemical parameters for milk and meat and assessment of the breeding function of goats in Romania.

REZUMAT

Cuvinte cheie: caprine, artrită encefalită caprină, CAEV, AGID, nested PCR, secvențiere

Faptul că tot mai mulți fermieri preferă creșterea caprelor din rase specializate pentru producția de lapte și că cea mai mare parte a cunoștințelor noastre sunt obținute din analogii cu patologiiile bovine sau ovine, a determinat necesitatea derulării prezentelor cercetări, a studiului patologiei artritei encefalitei caprine.

Creșterea caprinelor, în special a raselor specializate pentru producția de lapte se confruntă la nivel mondial cu o importantă patologie infecțioasă virală responsabilă de apariția unor afecțiuni care determină însemnate pierderi economice crescătorilor (ex. scăderea producției de lapte, pierderea în greutate, rămânerea în urmă cu creșterea, scăderea imunității și predispoziția la apariția infecțiilor secundare și a parazitismului gastrointestinal, scăderea perioadei de exploatare). Una din aceste afecțiuni este infecția cu *lentivirusul rumegătoarelor mici*, cu *virusul artritei encefalitei caprine* (CAEV).

Teza de doctorat intitulată „**Cercetări privind artrita encefalita caprină în estul României**” a avut ca scop identificarea prin metode diferite de diagnostic a prezenței infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine*, precum și conceperea unui plan strategic de supraveghere și control cât mai sustenabil.

Elementul de originalitate al acestei lucrări este conferit de multilateralitatea studiului infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine* la specia caprină, și nu în ultimul rând de identificarea și caracterizarea tulpinilor virale CAEV.

Teza de doctorat este redactată în 13 capitole, cuprinde 200 de pagini și este structurată conform criteriilor în vigoare în două părți principale: prima parte, intitulată „*Stadiul actual al cunoașterii*” și partea a doua „*Contribuții personale*”, la care se adaugă cuprinsul, introducerea, rezumatul, bibliografia aferentă și anexele.

Prima parte, „**Stadiul actual al cunoașterii**” cuprinde 35 de pagini, reprezentând 17,50%, și este structurată în 4 capitole, ce sintetizează principalele date bibliografice, caracterele etiologice, epidemiologice, tabloul clinic, anatomopatologic, dar și metodologia de diagnostic, control și supraveghere a infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine* la caprine, cu ultimele actualizări în domeniu din literatura de specialitate, pe baza a 300 titluri bibliografice.

Partea a doua „**Cercetări proprii**” este structurată în 9 capitole, cuprinde 155 de pagini, reprezentând 77,50%, conține 30 de tabele și 110 figuri. Fiecare capitol din partea a doua are în cuprins material și metode de lucru, rezultatele obținute cu discutarea lor și concluziile parțiale, ultimul capitol sintetizând concluziile finale aferente cercetărilor obținute.

În primul capitol intitulat „**Date privind istoricul și etiologia artritei encefalitei caprine**”, sunt prezentate date referitoare la istoricul și încadrarea taxonomică a agentului etiologic, precum și răspândirea și importanța acestei infecții.

Al II-lea capitol intitulat **„Epidemiologia și patogeniza infecției cu virusul artritei encefalitei caprine”**, cuprinde 5 subcapitole, în care sunt prezentate date de specialitate privind caracterele epidemiologice, receptivitate, sursele de infecție, căile de pătrundere a virusului în organism, modul de contaminare, dinamica epidemiologică și mecanismul patogenetic.

În capitolul al III-lea - **„Simptomatologia și morfopatologia artritei encefalitei caprine”**, au fost descrise tablourile clinice, anatomopatologice precum și modificările histopatologice determinate de *virusul artritei encefalitei caprine*.

Capitolul IV - **„Diagnostic, supraveghere și control în artrita encefalita caprină”** tratează principalele metode de diagnostic, făcând referire la diagnosticul etiologic și cel diferențial, precum și măsurile de supraveghere și control care trebuie aplicate pentru a limita răspândirea infecției.

În capitolul V intitulat **„Cadrul organizatoric și instituțional în care s-au desfășurat cercetările”**, sunt descrise instituțiile și cadrele organizatorice în care s-au desfășurat cercetările pe perioada celor 4 ani.

Capitolul VI intitulat **„Scopul și obiectivele cercetării”** redă scopul și obiectivele propuse pentru realizarea prezentei lucrări.

În continuare, în capitolul VII **„Observații epidemiologice privind patologia infecțioasă a caprinelor în estul României”** sunt prezentate cercetările epidemiologice realizate pe perioada celor 4 ani, având ca scop evidențierea prezenței patologiei infecțioase la populația de caprine în regiunea de est a României, corelarea patologiei cu rasa, categoria de vârstă, tipul de exploatare, factorii ce au contribuit la apariția afecțiunilor, precum și măsurile de prevenire și combatere.

În cadrul investigațiilor epidemiologice efectuate în perioada octombrie 2014 – iunie 2018, au fost examinate un număr de 8628 de caprine din diferite rase și categorii de vârstă precum și sisteme de exploatare din județele Botoșani, Iași și Vaslui. Ca urmare a examenelor clinice efectuate la efectivele de caprine s-a constatat prezența semnelor clinice la 14,19%, respectiv la un număr de 1224 de caprine. Afecțiunile de natură infecțioasă au fost prezente la toate rasele și categoriile de vârstă. Pondere cea mai însemnată a fost înregistrată la rasele specializate, de 64,22%, respectiv la un număr de 786 de animale, pentru cele adulte fiind de 53,35%, respectiv la un număr de 643 de animale, ușor mai mare față de tineretul caprin la care s-a înregistrat o pondere de 46,65%, respectiv la număr de 571 de animale. Afecțiunile mai des întâlnite sunt cele produse de agenți patogeni infecțioși precum: *Pasteurella spp.*, *Arthritis Encephalitis Virus*, *Orf Virus*, *Mycoplasma agalactiae*, *Dichelobacter nodosus* și *Fusobacterium necrophorum*.

În capitolul VIII - **„Cercetări privind seroprevalența artritei encefalitei caprine în estul României”** sunt redată cercetările seroepidemiologice efectuate în perioada 2014-2018, la caprinele din cele trei județe, având ca scop descrierea particularităților epidemiologice și stabilirea seroprevalenței artritei encefalitei caprine atât la caprinele din ferme cât și din gospodăriile populației din județele Botoșani, Iași și Vaslui. Din analiza rezultatelor obținute în urma cercetărilor efectuate privind semnificația diagnostică a testelor serologice utilizate pentru depistarea anticorpilor specifici CAEV, s-a constatat că

din cele 762 de probe de ser la 17,59%, respectiv la un număr de 134 de seruri, s-au obținut reacții pozitive, iar 82,41%, respectiv un număr de 628 de seruri, au reacționat negativ.

În capitolul IX **„Investigații privind aspectele clinice și paralinice în artrita encefalita caprină la caprine în estul României”** sunt cuprinse 2 subcapitole, în primul subcapitol fiind descrise aspecte clinice ale bolii la tineret și adulte, iar în cel de al doilea subcapitol sunt descrise aspecte imagistice. Investigațiile efectuate, când infecția cu CAEV este cauza suspectată a bolii clinice, au avut ca scop atât punerea în evidență, cât și corelarea manifestărilor clinice prezente consecutiv infecției virale cu aspectele imagistice observate în organele de elecție. Infecția cu *virusul artritei encefalitei caprine* evoluează la caprine din rasele specializate, cronic cu localizări, cu o slabă exprimare a semnelor clinice la toate categoriile de vârstă, cu valori cuprinse între 2,25% și 8,99%. La tineretul caprin cu vârsta până în 6 luni s-a constatat o formă clinică subacută, cu evoluția pneumoniei însoțită de slăbire progresivă. La caprinele adulte s-a constatat o evoluție cronică cu localizări articulare, respiratorii și mamare, exprimată clinic prin poliartrite cronice degenerative, pneumonii interstițiale și mastite indurative.

În continuare, în capitolul X **„Cercetări privind aspectele morfopatologice în artrita encefalita caprină la caprine în estul României”** sunt descrise leziunile macroscopice și microscopice din artrita encefalita caprină ce au fost puse în evidență prin examene necropsice și histopatologice. Investigațiile efectuate când infecția cu CAEV este cauza suspectată a bolii clinice au avut ca scop atât punerea în evidență cât și corelarea leziunilor macroscopice și microscopice prezente post-mortem consecutiv infecției nu doar în țesuturile de elecție ale virusului.

Capitolul XI **„Cercetări privind confirmarea diagnosticului artritei encefalitei caprine”** este structurat în două subcapitole, primul subcapitol cuprinde cercetările privind confirmarea diagnosticului artritei encefalitei caprine, de detecție a anticorpilor CAEV, prin metoda AGID, iar al doilea subcapitol cuprinde cercetările privind confirmarea diagnosticului artritei encefalitei caprine, de detecție a acidului nucleic, prin metoda nested PCR. În urma cercetărilor privind confirmarea diagnosticului artritei encefalitei caprine (detecția anticorpilor prin metoda AGID) efectuate în perioada 2014-2018, în cele trei județe, pe un număr de 762 de probe recoltate de la caprine, s-a constatat un răspuns pozitiv la 17,59%, respectiv la un număr de 134 de caprine și răspuns negativ la 82,41%, respectiv la un număr de 628 de caprine. În urma cercetărilor privind confirmarea diagnosticului *artritei encefalitei caprine*, prin metoda nested PCR, un fragment de mărimea așteptată a fost amplificat pentru 37 din cele 100 de probe luate.

Corelarea celor două metode, serologică prin testele AGID și moleculară prin metoda nested PCR, arată că din cele 100 de probe testate care provin de la caprinele luate în studiu, pentru 30 de probe cu rezultat pozitiv la testul AGID 86,67%, respectiv un număr de 26 de probe au obținut rezultate pozitive la nested PCR și 13,33%, respectiv un număr de 4 probe au obținut rezultate negative la nested PCR. La cele 70 de probe seronegative la 84,29%, respectiv un număr de 59 de probe s-au obținut rezultate negative la nested PCR și la 15,71%, respectiv la un număr de 11 probe s-au obținut rezultate pozitive la nested PCR. Atunci când testul AGID este folosit ca singură metodă pentru diagnosticarea CAEV este

observată o rată ridicată de rezultate fals-negative (15,71%). Astfel, luând în considerare metodele folosite pentru determinarea statusului infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine* la cele 100 de caprine, s-a constatat o specificitate mai mare a testelor AGID, de 81,08%, respectiv au fost 30 de rezultate pozitive din totalul de 37 obținute și o sensibilitate mai mare la nested PCR, un număr de 11 animale seronegative au fost fals negative.

Ultimul subcapitol cuprinde analiza filogenetică a secvențelor de nucleotide obținute în urma amplificării virale și a secvențierii care a relevat un procentaj de similitaritate cuprins între 96,3-94,8%, arătând apartenența la prototipul SRLVs, grupul filogenetic B, subtipul B1, specific *virusului artritei encefalitei caprine*.

În capitolul XII „**Strategia de supraveghere și control a infecției cu virusul artritei encefalitei caprine**” sunt redate măsurile strategice de supraveghere și control adoptate pentru a reduce sau elimina pierderile cauzate de boală, pentru a limita cât mai mult posibil incidența bolii în efectivele de caprine.

În capitolul XII - „**Concluzii finale**”, sunt sintetizate 16 concluzii finale cu principalele aspecte desprinse în urma cercetărilor efectuate.

ABSTRACT

Keywords: goats, caprine arthritis encephalitis, CAEV, AGID, nested PCR, sequencing

The fact that more and more farmers prefer breeding goats from specialized races for milk production and that most of our knowledge is derived from analogy with cattle or sheep pathology has led to the need to carry out research into the pathology of caprine arthrithis encephalitis.

The growth of goats, especially specialized breeds for milk production, is facing worldwide with an important infectious viral pathology responsible for the occurrence of diseases that cause significant economic losses to the breeders (eg milk production decline, weight loss, lagging behind increase, decrease of immunity and predisposition to secondary infections and gastrointestinal parasitism, decrease of the period of exploitation). One of these disorders is infection with lentivirus of small ruminants, *caprine arthritis encephalitis virus* (CAEV).

The PhD Thesis titled "**Research on arthritis of caprine encephalitis in Eastern Romania**" was aimed at identifying by different diagnostic methods the presence of infection with the goat encephalitis arthritis virus as well as the elaboration of a strategic plan of control and surveillance as sustainable as possible.

The originality elements of this work are conferred by the clinical and anatomopathological study of the caprine arthrithis encephalitis on the goats for the first time in Romania, as well as the correlations and statistical differences of the results obtained during the serological tests and molecular biology.

The doctoral dissertation is written in 13 chapters, contains 200 pages and is structured according to the scientific criteria in two main parts: the first part, entitled "**Current state of knowledge**" and second part "**Personal Contributions**" to which is added the content, , the abstract, the related bibliography and the annexes.

The first part, "**Actual Stage of Knowledge**", consists of 35 pages, representing 17,50%, and is structured in 4 chapters, which synthesizes the main bibliographic data, the etiological, epidemiological, clinical, anatomopathological, diagnostic, surveillance of the caprine arthrithis encephalitis on goats, with the latest updates in the field of literature based on 304 bibliographic titles.

The second part "**Own research**" is structured in 9 chapters, it contains 155 pages, representing 77,50%, contains 30 tables, and 110 figures. Each chapter of the second part contains material and working methods, the results obtained with their discussion and the partial conclusions, the last chapter synthesizing the final conclusions of the researches obtained.

In the first chapter titled "**Bibliografic data about the history and etiology of caprine arthrithis encephalitis**", data are presented regarding the history and classification of the etiological agent, as well as the spread and importance of this infection.

The second chapter entitled "**Epidemiology and pathogenesis of infection with caprine arthrithis encephalitis virus (CAEV)**" contains 5 subchapters, presenting scientific data on epidemiological characteristics, receptivity, sources of infection, ways of penetration of the virus in the organism, mode of contamination, epidemiological dynamics and pathogenetic mechanism.

In chapter III "**Caprine arthrithis encephalitis symptomatology and morphopathology**" were described the clinical, anatomopathological and histopathological changes caused by the *caprine arthrithis encephalitis virus*.

Chapter IV - "**Diagnosis, surveillance and control of caprine arthrithis encephalitis**" treats the main diagnostic methods, referring to the etiological and differential diagnosis, as well as the surveillance and control measures to be applied to limit the spread of the disease.

Chapter V entitled "**The organizational and institutional framework in which the research was carried out**" describes the institutions and organizational frameworks in which the research was carried out during the 4 years.

Chapter VI entitled "**The purpose and objectives of the research**" presents the purpose and the objectives proposed for this research.

In Chapter VII, "**Epidemiological observations regarding on infectious pathology of goats in the East of Romania**" are presented the epidemiological researches carried out during the 4 years with the purpose to highlight the presence of infectious pathology in the goat population in the eastern region of Romania, the correlation of the pathology with the race, the age category, the type of holding, the factors that contributed to the occurrence of the diseases as well as the prevention and control measures.

Within the epidemiological investigations carried out between October 2014 and June 2018, 8628 goats of different races and age categories were examined, as well as exploitation systems in the counties of Botosani, Iasi and Vaslui. As a result of the clinical examinations carried out in goats, clinical signs were found at 14,19%, respectively 1224 goats. Infectious diseases were present in all races and age categories. The most significant loose of weight was recorded in specialized breeds of 64,22%, respectively in 786 animals, for adult ones it was 53,35%, respectively 643 animals, slightly higher than the young goat which registered a weight of 46,65%, respectively 571 goats. The most common diseases are those caused by infectious pathogens such as: *Pasteurella spp.*, *Caprine Arthrithis Encephalitis Virus*, *Orf Virus*, *Mycoplasma agalactiae*, *Dichelobacter nodosus* and *Fusobacterium necrophorum*.

In Chapter VIII - "**Research on seroprevalence of caprine arthrithis encephalitis in the East of Romania**", the seroepidemiological researches carried out during the period 2014-2018 in goats from the three counties are presented, aiming at describing the epidemiological features and determining the seroprevalence of caprine arthrithis encephalitis both in goat farms as well as from households in the counties of Botosani, Iasi and Vaslui. From the analysis of the results obtained from the researches performed on the diagnostic significance of the serological tests performed for CAEV antibodies, it was found

out that of the 762 serum samples at 17,59% and 134 sera, respectively, positive reactions were obtained, and 82,41% and 628 sera, respectively, reacted negatively.

In Chapter IX "**Clinical and paraclinical investigations concerning the *caprine arthrithis encephalitis* at goats in the East of Romania**" there are 2 subchapters, the first subchapter describes clinical aspects of the disease in young goats and adults, and in the second subchapter are described aspects of imaging. Investigations, when CAEV infection was the suspected cause of clinical disease, aimed both at highlighting and correlating the clinical manifestations present in viral infection with the imaging aspects present in the elective organs. Infection with the *caprine arthrithis encephalitis virus* evolves in specialized goats breeds, chronically with localizations, with poor clinical signs in all age groups, with values ranging from 2,25% to 8,99%. In goat youth up to 6 months of age, there was a subacute clinical form with the progression of pneumonia with progressive weakening. Adult goats found a chronic evolution with locations (ariculatory, respiratory and mammary) clinically expressed by degenerative chronic arthritis, interstitial pneumonia and induration mastitis.

Further, chapter X "**Research concerning morphopathological aspect in caprine arthrithis encephalitis at goats in the Eas of Romania**" describes the macroscopic and microscopic lesions of caprine arthrithis encephalitis which were highlighted by necropsy and histopathology examinations. Investigations when CAEV infection is the suspected cause of clinical disease were aimed both at highlighting and correlating post-mortem macroscopic and microscopic lesions following infection not only in the virus's chosen tissues.

Chapter XI "**Research concerning the confirmation of caprine arthrithis encephalitis diagnosis**" is structured in two subchapters, the first subchapter includes research on the confirmation of diagnosis of caprine arthrithis encephalitis, detection of CAEV antibodies by the AGID method, and the second subchapter includes research on confirmation of diagnosis of caprine arthrithis encephalitis, detection of nucleic acid by the nested PCR method. Following research on confirmation of the diagnosis of caprine arthrithis encephalitis, the detection of antibodies by the AGID method carried out in 2014-2018 in the three counties to 762 serum samples from goats from the three counties showed a positive response to 17,59% respectively, to a number of 134 goats and negative response to 82,41%, respectively to 628 goats. Following research to confirm the diagnosis of goat encephalitis arthritis, using the nested PCR method, a fragment of the expected size was amplified for 37 of the 100 samples processed.

Regarding the correlation of the two methods, serologically by AGID and molecular testing by the nested PCR method, the 100 samples from the goats studied were found for 30 samples with a positive result in the AGID test of 86,67% respectively a number of 26 samples obtained positive results in nested PCR and 13,33%, respectively a number of 4 samples obtained negative results in nested PCR. In the 70 seronegative samples at 84,29% and 59 samples respectively negative results were obtained at nested PCR and at 15,71% respectively in 11 samples positive PCR results were obtained. When the AGID test is used as the only method for CAEV diagnosis, a high rate of false-negative results (15,71%) is

observed. Thus, taking into account the methods used to determine the status of infection with the *caprine arthrithis encephalitis virus* in the 100 goats, there was a higher specificity of the AGID tests of 81.08%, respectively 30 positive results from the total of 37 obtained and a higher sensitivity to nested PCR, a number of 11 seronegative animals were false negative.

The phylogenetic analysis of the nucleotide sequences obtained from the viral amplification revealed a similarity percentage of 96.3-94.8%, showing the belonging to the prototype SRLVs, the phylogenetic group B, the subtype B1, specific for *caprine arthrithis encephalitis virus*.

Chapter XII "**Strategy for the surveillance and control of the *caprine arthrithis encephalitis arthritis virus* infection**" sets out the strategic surveillance and control measures adopted to reduce or eliminate the losses caused by the disease in order to limit as far as possible the incidence of the disease in goats.

In Chapter XII - "**Final Conclusions**", 16 final conclusions are synthesized with the main issues emerging from the research carried out.

PARTEA I. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII CURRENT STATE OF KNOWLEDGE

CAPITOLUL 1. DATE BIBLIOGRAFICE PRIVIND ISTORICUL ȘI ETIOLOGIA ARTRITEI ENCEFALITEI CAPRINE (CAE)

CHAPTER 1. BIBLIOGRAPHYC DATA ABOUT HISTORY AND ETIOLOGY OF CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS

1.1 Istoricul și răspândirea virusului artritei encefalitei caprine (CAEV)

Lentivirusurile rumegătoarelor mici (SRLV) din familia *Retroviridae* sunt grupate împreună, pentru că *virusul artitei encefalitei caprine* (CAEV), specific caprinelor, poate fi transmis experimental ovinelor, iar *maedi visna virus* (MVV) cunoscut și ca *virusul pneumoniei progresive ovine* (OPPV), specific ovinelor, poate fi transmis experimental caprinelor. Ca urmare a tipizării tulpinilor virale s-a constatat prezența la caprine a unor tulpini virale OPP-like virus sau MV-like virus, iar la ovine tulpini CAE-like virus (Chebloune ș.a., 1996a; Rolland ș.a., 2002; Shah ș.a., 2004a; Shah ș.a., 2004b; Pisoni ș.a., 2005; Reina ș.a. 2006; Pisoni ș.a., 2007).

Medicul veterinar Loman prezintă pentru prima dată în 1862, la oi de rasă Texel, ceea ce denumim acum pneumonie progresivă ovină (VanMaanen ș.a., 2010). În Statele Unite, dr. Hadleigh Marsh în raportul intitulat „Pneumonia progresivă la ovine” a descris la oile din Montana leziuni progresive ale tractului respirator încă din 1915. A raportat o mortalitate de 100% în turmele afectate, cu pierderi anuale de 2 până la 10% (Marsh, 1923). În Islanda în anii 1930, o afecțiune cu mortalitate ridicată asociată cu pierderea în greutate și dispnee a survenit la ovine, mai ales la cele cu vârsta mai mare de doi ani. Pierderile anuale au fost de 20% până la 30% (Sigurdsson ș.a., 1952). În 1964, Sigurdsson a izolat un virus asociat unui focar de maedi în Islanda, a descris similitudini cu virusul visna, care erau asemănătoare cu cele din rapoartele prezentate în Statele Unite și a demonstrat că este același agent patogen pentru ambele boli, descris și ca fiind un virus lent (Sigurdsson ș.a., 1960; Sigurdsson și Thormar, 1964).

În 1962, leziuni asemănătoare cu cele descrise la oi pentru forma respiratorie maedi visna au fost semnalate la capre în India, leziuni caracteristice de hiperplazie limfocitară peribronhială și perivasculară (Rajya și Singh, 1964).

Prima descriere a artritei encefalitei caprine a fost făcută de Cork și colaboratorii în 1974 pe teritoriul Statelor Unite ale Americii (Cork ș.a., 1974). Autorii au semnalat la ieziți fătați în vara anului 1970 primele semne clinice de leucoencefalomielită și de pneumonie interstițială subclinică la tineretul caprin în vârstă de patru luni. A fost descris un sindrom care debutează cu ataxie posterioară, care în două săptămâni a progresat până la paralizia completă. De asemenea, se menționează o pneumonie interstițială care a însoțit leziunile

neuropatice. Totodată s-a observat că în perioada 1968-1969 animalele adulte din turmă au fost afectate de artrită progresivă (Cork ș.a., 1974). Într-o publicație realizată de aceiași autori au fost prezentate leziuni asociate bolii neurologice. Două din caprele luate în studiu au supraviețuit timp de 8 luni și respectiv 3 ani. Ambele caprine, în plus, față de leziunile de leucoencefalomielită au prezentat și leziuni ale vilozităților sinoviale carpiene cu plasmocite infiltrative (Cork ș.a., 1974).

Au fost făcute și alte raportări de caprine tinere cu semne neurologice progresive după descrierea lui Cork. Leziuni de leucoencefalomielită au fost raportate la două caprine din Minnesota în 1973 (Sherman, 1973). Un alt raport din 1978 a descris leziuni similare la șase caprine din Queensland Australia (O'Sullivan, 1978). Agentul etiologic a fost identificat ca un retrovirus, iar în 1980 virusul a fost izolat din creier (Narayan ș.a., 1980) și din lichidul sinovial și a fost desemnat de Crawford și colaboratorii drept *virusul artritei encefalitei caprine* (CAEV) (Crawford ș.a., 1980).

La scurt timp după ce virusul a fost izolat în America de Nord, acesta a fost izolat în Noua Zeelandă de la o capră, fiică a unei femele importate din Australia (Oliver ș.a., 1982). Ulterior prezența virusului a fost semnalată la caprele din întreaga lume, în Marea Britanie (Dawson ș.a., 1983), Australia (Ellis ș.a., 1983), Italia (Agrimi ș.a., 1987), Elveția (Krieg și Peterhans, 1990), Polonia (Kaba ș.a., 1997; Reichert și Kozaczyński, 2001), Mexic (Torres-Acosta ș.a., 2003), Brazilia (Bandeira ș.a., 2009).

Artrita encefalita caprină (CAE) este o boală infecțioasă cronică a caprelor domestice cu o perioadă de incubare lungă, cu o evoluție lentă și progresivă (Perk ș.a., 1995; Narayan ș.a., 1988; Nogueira ș.a., 2009).

Importanța economică și sanitară

Importanța economică

Infecțiile cauzate de *lentivirusurile rumegătoarelor mici* (SRLVs) la capre (*virusul artritei encefalitei caprine*) și la oi (*virusul maedi visna*) au un impact economic negativ, adeseori subestimat, dependent de factorii de mediu, rasă, susceptibilitatea și vârsta individului, sistemul de producție, condițiile de întreținere și rata de înlocuire (Christodouloupoulos, 2006; Peterhans ș.a., 2004).

Impactul productiv este dat de înlocuirea prematură a animalelor bolnave având ca urmare o creștere a ratei de înlocuire. Pneumonia interstițială produsă de CAEV are o evoluție lentă și progresivă, cu pierderi în greutate până la cahexie, animalele urmând a fi sacrificate sau eutanasiate. Carcasa animalelor în stadiul avansat al bolii prezintă deprecieri, este improprie consumului, urmând a fi distrusă. La animalele adulte mai poate determina mastite indurative având ca efect scăderea producției de până la 10-15% (Peterhans ș.a., 2004) și producerea unui lapte cu caracteristici modificate (Leitner ș.a., 2010).

Artrita encefalita caprină este o importantă boală infecțioasă virală a caprinelor prezentă în multe țări ale lumii, fapt ce determină pierderi economice considerabile datorită scăderii perioadei de exploatare și a producției de lapte, sacrificării animalelor infectate, pierderii de material genetic de calitate, mai ales când prevalența bolii este crescută la nivel

de turmă. Totodată limitează tranzitul și comerțul țărilor în care CAE evoluează endemic (Peterhans ș.a., 2004; Martínez-Navalon ș.a., 2013).

Importanța sanitară

Virusul artritei encefalitei caprine (CAEV) infectează gazda pe viață. În majoritatea cazurilor infecția este subclinică, un număr mic de animale infectate manifestând semne clinice progresive și netratabile, cum ar fi poliartrita la animalele adulte și encefalomielite la iezi.

Boala afectează bunăstarea animalelor, reduce calitatea vieții animalelor afectate clinic datorită durerii articulare și dificultății la mers (Peterhans ș.a., 2004), scăderii mari în greutate, scăderii imunității și predispoziției la apariția infecțiilor secundare și a parazitismului gastrointestinal (Carneiro ș.a., 2011).

Virusul artritei encefalitei caprine specific caprinelor este strâns înrudit cu *maedi visna virus*, care este specific mai mult ovinelor. Caprele și oile sunt de obicei crescute în turme mixte și deși cazurile de transmitere naturală a infecției între specii au fost rare, au fost raportate cazuri în care CAEV poate infecta oile și MVV poate infecta caprele. În Elveția infecția cu CAEV a fost reintrodusă în turmele libere de CAE prin ținerea caprelor în contact cu oile infectate. Recent au fost demonstrate recombinații dintre MVV și CAEV fapt ce are ca rezultat elaborarea unor programe de eradicare comune care să se adreseze ambelor boli, maedi visna și artritei encefalitei caprine.

1.2 Încadrarea taxonomică a virusului

Virusul artritei encefalitei caprine (CAEV) aparține ordinului *Ortervirales*, familiei *Retroviridae*, subfamiliei *Orthoretrovirinae*, genul *Lentivirus* (ICTV, 2017).

Numele familiei *Retroviridae* (din latină "retro", adică "înapoi") se datorează prezenței enzimei revers transcriptază la toți membrii familiei, enzimă implicată în sinteza de ADN proviral dublu catenar din ARN-ul viral. Acțiunea revers transcriptazei realizează încorporarea permanentă a materialului genetic din retrovirus în genomul ADN al celulei infectate.

Retrovirusurile sunt asociate cu o varietate de boli. Acestea includ: malignități, inclusiv leucemii, limfoame, sarcoame și alte tumori de origine mezodermică; carcinoame mamare și carcinoame hepatice, pulmonare și renale; imunodeficiențe (cum ar fi SIDA); boli autoimune; afecțiuni ale neuronilor motori periferici; mai multe boli acute care implică leziuni tisulare. Unele retrovirusuri par a fi nepatogene.

Retrovirusurile cuprind o familie mare și diversă de virusuri ARN, definite taxonomic după mai multe criterii care includ structura, compoziția și proprietățile replicative (Coffin, 1992a; Coffin, 1992b; Coffin, 1996).

Subfamilia *Orthoretrovirinae* este subîmpărțită în șase genuri (fig. 1.1) în baza secvențelor de aminoacizi ale revers transcriptazei: *Alpharetrovirus*, *Betaretrovirus*, *Gammaretrovirus*, *Deltaretrovirus*, *Epsilonretrovirus* și *Lentivirus*, în timp ce subfamilia *Spumaretrovirinae* include numai un singur gen, *Spumavirus*. Virusurile incluse în cinci

dintre aceste genuri sunt potențial oncogene (cunoscute anterior ca oncovirusuri), în timp ce membrii incluși în genurile *Lentivirus* și *Spumavirus* nu sunt oncogeni (Pringle, 1999).

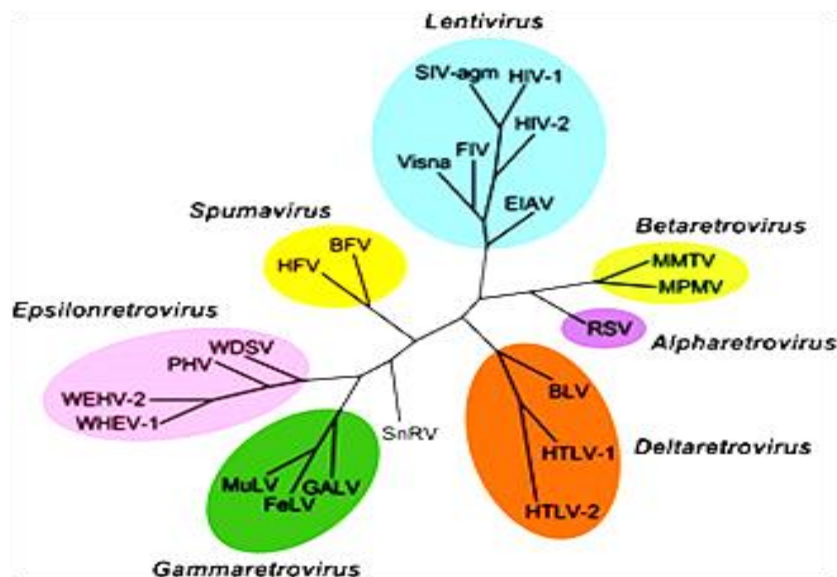


Figura 1.1 Analiza filogenetică a regiunilor conservate ale genei polimerază retrovirală

Figure 1.1 Phylogenetic analysis of conserved regions of the retrovirus polymerase gene

(https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/reverse-transcribing-dna-and-rna-viruses)

Genul *Lentivirus* este împărțit în cinci grupuri, pe baza specificității de gazdă: grupul de lentivirus bovin (*virusul imunodeficienței bovine*, BIV și *virusul bolii de Jembrana*, JDV), grupul ecvin (*virusul anemiei infecțioase ecvine*, EIAV), grupul felin (*virusul imunodeficienței feline*, FIV și *lentivirusul puma*, PLV), grupul ovin/caprin (*virusul mædi visna*, MVV și *virusul artritei encefalitei caprine*, CAEV) și grupul primate (*virusul imunodeficienței umane*, HIV și *virusul imunodeficienței simian*, SIV) (Crawford ș.a., 1980; Olmsted ș.a. 1992; Kertayadnya ș.a., 1993; Berkhout, 1996). Infecțiile cu lentivirusuri se caracterizează printr-o perioadă de incubare lungă între infecția inițială și apariția semnelor clinice ale bolii (din latină "lenti", adică "lent") (Marsh, 1923; Sigurdsson ș.a., 1952; Rimstad ș.a., 1993).

Din punct de vedere istoric, o nomenclatură bazată pe microscopia electronică a membrilor clasificați din genurile *Alpharetrovirus* și *Gammaretrovirus*, îi încadrează ca virusuri de tip C, la care, la membrana plasmatică se assemblează capsidul imatur. Membrii genului *Betaretrovirus* care assemblează particule de tip A (capsidul imatur) în citoplasmă au fost încadrați fie de tip B (*virusul tumoral mamar de șoarece*, MMTV), fie de tip D (*virusul de maimuță-Mason-Pfizer*, MPMV).

Pentru virusul CAE microscopia electronică arată că acesta are o morfologie particulară ce a determinat încadrarea lui în genul *Lentivirus* fiind în același timp distinct de ceilalți membri ai familiei *Retroviridae*.

Pe baza analizei secvențierii și a filogenezei genelor *gag* și *pol* (segmentul *gag-pol* 1,8 kb și segmentul *pol* de 1,2 kb), SRLVs sunt împărțite în cinci grupe filogenetice (A, B,

Grupa A cuprinde prototipurile de SRLV izolate de la ovine și este împărțită în 15 subtipuri diferite (A1-15). Grupa B include prototipurile de SRLV izolate de la caprine și este împărțită în trei subtipuri diferite (B1-3). Grupa C cuprinde izolatele de SRLV de la capre din Norvegia, în timp ce grupul D cuprinde izolate de la capre din Elveția și Spania. Grupul E este împărțit în două subtipuri de izolate de la capre din nordul Italiei (E1) și insula Sardinia (E2). Dintre subtipurile izolate, se consideră genotipul B1 ca aparținând pentru CAEV și genotipul A1 pentru MVV (Shah ș.a., 2004a; Cardinaux ș.a., 2013; Santry ș.a., 2013).

Figura 1.2 redă arborele filogenetic care implică secvențe complete ale SRLVs, obținute de la GenBank care include numere de acces cu litere aldine și subliniate, numele izolatului și originea țării, indicând genotipurile și subtipurile SRLV.

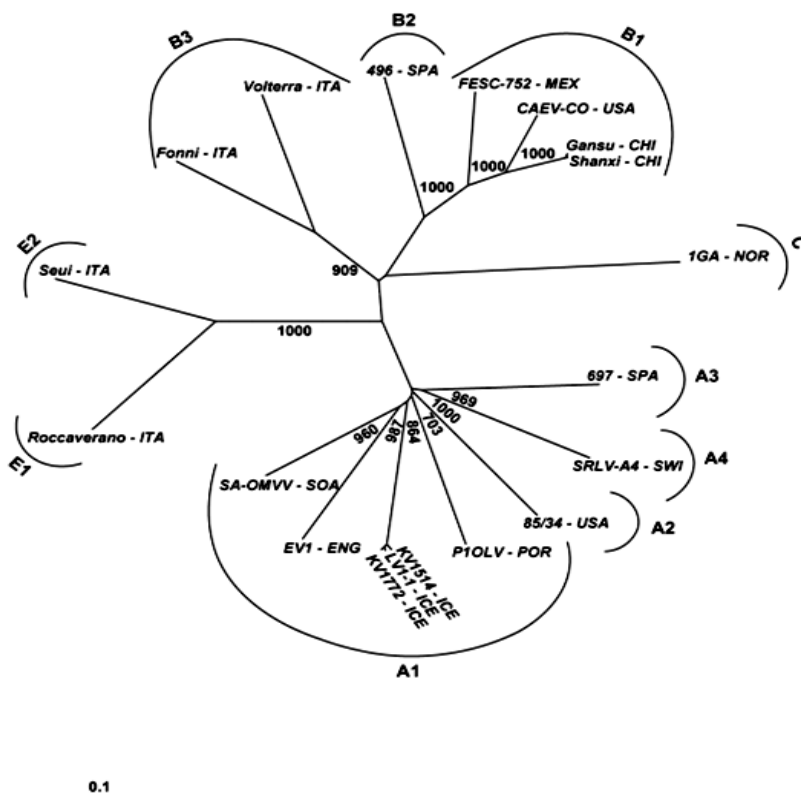


Figure 1.2 Phylogenetic tree involving SRLV

(https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/reverse-transcribing-dna-and-rna-viruses)

Deși infecția cu SRLV este foarte răspândită și distribuită pe toate continentele (Adams ș.a., 1984; Shah ș.a., 2004a) există puține informații despre variantele genetice care circulă în diferite regiuni geografice (tabelul 1.1).

Tabelul 1.1/ Table 1.1

Distribuția genotipurilor și a subtipurilor SRLV în diferite regiuni ale globului (după Ramirez, 2013)

Distribution of SRLV genotypes and subtypes in different regions of the globe (after Ramirez, 2013)

Nr. crt.	Țara	Genotip	Referințe
1	2	3	4
1.	Africa de Sud	A1(S)	Querat ș.a., 1990
2.	Anglia	A1(S)	Sargan ș.a., 1991
3.	Brazilia	A1(G/S), B1(G)	Castro ș.a., 1999; Ravazzolo ș.a., 2001; Feitosaa ș.a., 2010.
4.	Canada	A2(S), B1(G)	L'Homme ș.a., 2011
5.	China	B1(G)	Qu ș.a., 2005; Huang ș.a., 2012
6.	Coreea de Sud	B1(G)	Park ș.a., 2010
7.	Elveția	A1(S), A3(G/S), A4(G/S), A5(G), A6(G/S), A7(G), B1(G), B2(S), D(S)	Shah ș.a., 2004a; Shah ș.a., 2004b
8.	Finlanda	A1(S), A2(S)	Laamanen ș.a., 2007
9.	Franța	A1(S), A6(G/S), B1(G/S), B2(G/S)	Leroux ș.a., 1995; Leroux ș.a., 1996; Leroux ș.a., 1997b; Valas ș.a., 1997; Shah ș.a., 2004; Germain ș.a., 2006
10.	Grecia	A5(S)	Angelopoulou ș.a., 2005
11.	Irlanda	A1(G)	Rolland ș.a., 2002
12.	Islanda	A1(S)	Sonigo ș.a., 1985; Staskus ș.a., 1991; Andresson ș.a., 1993
13.	Italia	A1(G, A8(G), A9(G/S), A10(G), A11(G/S), B1(G/S), B2(S), B3(G/S), E1(G), E2(G)	Grego ș.a., 2007; Reina ș.a., 2009; Pisoni ș.a., 2010; Reina ș.a., 2010; Bertolotti ș.a., 2011
14.	Japonia	B1(G)	Konishi ș.a., 2004
15.	Mexic	B1(G/S)	Ramirez ș.a., 2011
16.	Norvegia	A1(S), C(G/S)	Gjerset ș.a., 2007; Gjerset ș.a., 2006
17.	Olanda	A1(S)	Zanoni ș.a., 1991
18.	Polonia	A1(G/S), A12(G/S), A13(G/S), B1(G), B2(S)	Kuzmac ș.a., 2007; Olech ș.a., 2011

1	2	3	4
19.	Portugalia	A1(S)	Fevereiro ș.a., 2004
20.	Rusia	B1(G)	Baryshnikova ș.a., 2011
21.	Slovenia	A5(S), A14(G), A15(S), B1(G)	Kuhar ș.a., 2013
22.	Spania	A1(S), A3(S), B2(S), D(G/S)	Glaria ș.a., 2009; Glaria ș.a., 2012
23.	Turcia	A2(S), A3(S), A5(S), A9(S), A11(S), B3(S)	Bertolotti ș.a., 2011; Muz ș.a., 2013
24.	SUA	A2(S), B1(G/S)	Narayan ș.a., 1980; Saltarelli ș.a., 1990; Chebloune ș.a., 1996b; Karr ș.a., 1996

Genomurile complete au fost secvențiate și sunt disponibile în GenBank, pentru caprine (G): [**CAEV-CO** (Narayan ș.a., 1980; Saltarelli ș.a., 1990), **A4** (Shah ș.a., 2004a), **Gansu** (Qu ș.a., 2005), **1GA** (Gjerset ș.a., 2006; Gjerset ș.a., 2007), **Roccaverano** (Reina ș.a., 2009), **Seui** (Reina ș.a., 2010), **FESC-752** (Ramirez ș.a., 2011) și **Shanxi** (Huang ș.a., 2012)] dar și pentru ovine (S): [**KV1514** (Andresson ș.a., 1993), **KV1722** (Sonigo ș.a., 1985), **SA-OMVV** (Querat ș.a., 1990), **LV1** (Staskus ș.a., 1991), **EV1** (Sargan ș.a., 1991), **85/34** (Karr ș.a., 1996), **P1OLV** (Fevereiro ș.a., 2004), **Fonni**, **Volterra** (Bertolotti ș.a., 2011), **496** (Glaria ș.a., 2009, p. 156-162), și **697** (Glaria ș.a., 2012)].

Alte secvențieri parțiale au fost publicate în: Brazilia (Castro ș.a., 1999; Ravazzolo ș.a., 2001; Feitosaa ș.a., 2010), Canada (L'Homme ș.a., 2011), Finlanda (Laamanen ș.a., 2007), Franța (Leroux ș.a., 1997b; Valas ș.a., 1997; Shah ș.a., 2004a; Germain ș.a., 2006), Grecia (Angelopoulou ș.a., 2005), Irlanda (Rolland ș.a., 2002), Japonia (Konishi ș.a., 2004), Olanda (Zanoni ș.a., 1991), Polonia (Kuzmac ș.a., 2007; Olech ș.a., 2011), Rusia (Baryshnikova ș.a., 2011), Slovenia (Kuhar ș.a., 2013), Coreea de Sud (Park ș.a., 2010) și Turcia (Bertolotti ș.a., 2011; Muz ș.a., 2013).

Alte scheme de clasificare se bazează pe transmisia orizontală versus verticală a retrovirusurilor individuale sau pe capacitatea lor de a transforma celulele infectate (retrovirusuri oncogene).

În prezent, clasificarea taxonomică cea mai larg acceptată a retrovirusurilor se bazează pe secvența lor genomică, virusurile fiind astfel grupate prin dependență evolutivă.

Morfologie

Virionul retroviral are înveliș, o formă distinctă, aproximativ sferică și diametrul de 80-100 nm. Glicoproteinele de suprafață ale capsidului au lungimea de aproximativ 8 nm. Miezul intern constituie nucleocapsida virală. Nucleoidul aparent sferic este excentric pentru membrii din genul *Betaretrovirus*, concentric pentru membrii genurilor *Alpharetrovirus*, *Gammaretrovirus*, *Deltaretrovirus* și *Spumavirus* și de formă conică sau trunchi de con pentru membrii genului *Lentivirus*.

Structura particulei retrovirale este reprezentată schematic în partea superioară din figura 1.3. Locațiile diferitelor structuri și proteine virale (partea inferioară fig. 1.3) sunt: (A) *Alfaretrovirus*, *virusul leucozei aviare* (ALV), tip morfologie "C"; (B) *Betaretrovirus*, *virusul tumoral mamar de șoarece* (MMTV), tip morfologie "B"; (C) *Gamaretrovirus*, *virusul leucemiei murine* (MLV); (D) *Deltaretrovirus*, *virusul leucemiei bovine* (BLV); (E) *Lentivirus*, *virusul imunodeficienței umane 1* (HIV-1); (F) *Spumavirus*, *virus spumos simian* (SFVcpz (hu), denumit anterior HFV).

Morfologia virionilor este clasificată în structuri cu: o membrană dublă intracelulară lipsită de forme incipiente (A), un miez sferic excentric extracelular (B), miez central (m) sferic (C) sau un miez cilindric (D) (fig. 1.3).

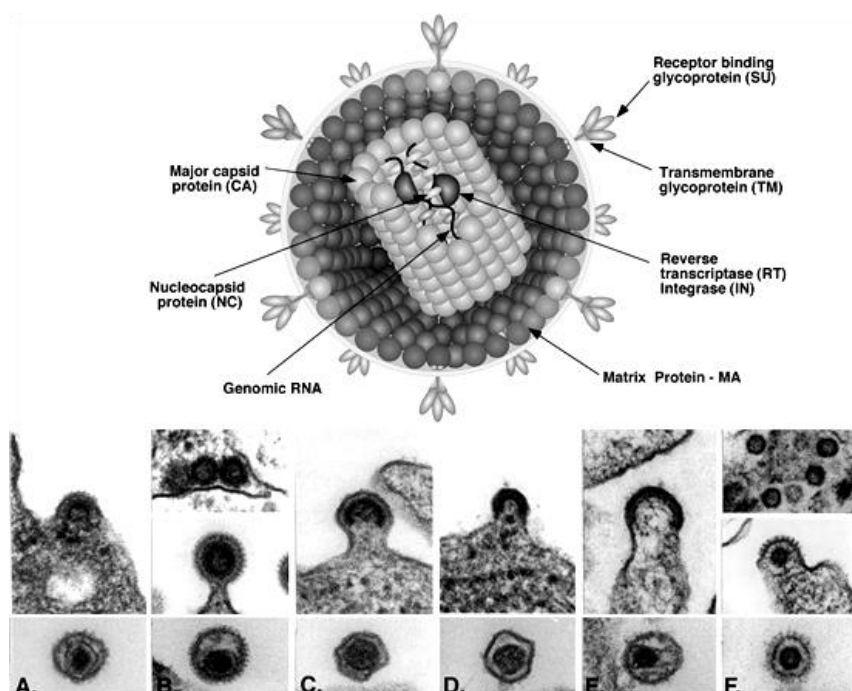


Figura 1.3 Structura particulei retrovirale

Figure 1.3 Retroviral particle structure

(https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/reverse-transcribing-dna-and-rna-viruses)

Organizarea genomului și replicarea

Genomul viral caracteristic membrilor subfamiliei *Orthoretrovirinae* conține un dimer de ssARN liniar, sens pozitiv, fiecare monomer având dimensiunea de 7-13 kb.

Lentivirusurile au în componența lor: proteine 60%, lipide 35%, carbohidrați 3% și ARN 2% (Petursson ș.a., 1992). CAEV este un virus ARN liniar sens pozitiv al cărui genom conține două molecule de ARN identice responsabile pentru codificarea a trei gene structurale: *gag*, *env* și *pol* (Ravazzolo și Costa, 2007; Brandao ș.a., 2013; Schoborg, 2014). Gena *gag* este exprimată mai întâi ca o poliproteină *gag* (p55), care este scindată la suprafața celulei, rezultând proteinele de capsidă virală (p28), matricea (p19) și nucleocapsida (p16)

(Brandao ș.a., 2013). Gena *env* codifică învelișul fosfolipidic cuprinzând glicoproteina de suprafață gp135 și proteina transmembranară gp45, care interacționează cu receptorul celulei țintă și acționează asupra penetrării celulare (Ravazzolo și Costa, 2007). Gena *pol* codifică o parte a unei poliproteine (*gag-pol-pro*) ale căror produse de clivaj includ întotdeauna revers transcriptaza, integraza și proteaza (Petropoulos, 1997). În plus față de genele structurale *gag*, *pro*, *pol* și *env*, există gene suplimentare, în funcție de virus (de exemplu pentru HIV-1: *vif*, *vpr*, *vpu*, *tat*, *rev* și *nef*) ale cărui produse sunt implicate în reglarea sintezei și prelucrarea virusului ARN, precum și combaterea factorilor de restricție ai gazdei (fig. 1.4).

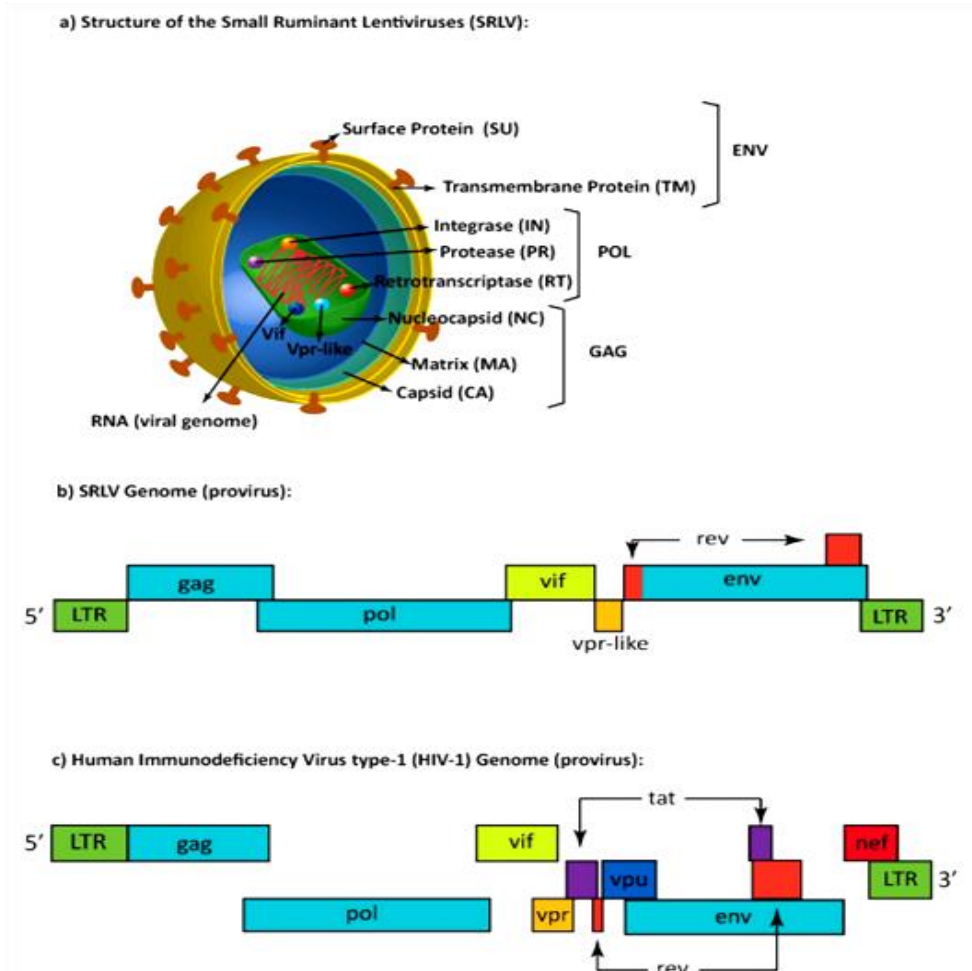


Figura 1.4 Structura virionului și a genomului SRLV: (a) virion, (b) genom, (c) genom HIV-1, inclus pentru comparație

Figure 1.4 Structure of virion and genome of SRLV: (a) virion, (b) genome, (c) HIV-1 genome, included for comparison

(https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/reverse-transcribing-dna-and-rna-viruses)

Heterogenitatea virusului este datorată erorilor rezultate din transformarea ARN-ului viral prin transcriptție inversă (Callado ș.a., 2001).

Cele mai multe gene sunt situate 3' la *gag-pro-pol* și, cel puțin parțial, 5' la *env*; unul (*nef* în *virusul imunodeficienței umane 1*, HIV-1) este de 3' la *env*. Pentru alte virusuri pot exista și alte gene non-structurale (de exemplu *vpx* în *virusul imunodeficienței umane 2*, HIV-2). LTR este de aproximativ 600 nt lungime, din care regiunea U3 este 450 nt, secvența R este de 100 nt și regiunea U5 este de 80 nt.

Monomerii sunt păstrați împreună prin legături de hidrogen. Fiecare monomer al ARN – lui este poliadenilat la capătul 3' și are o structură de capc (tip 1) la capătul 5'. ARN-ul virion purificat nu este infecțios. Fiecare monomer este asociat cu o moleculă specifică de tARN care este legată la bază cu o regiune (numită punctul de legare a primerului) în apropierea capătului 5' al ARN – lui și implică aproximativ 18 nt la capătul 3' al ARNm. Alte ARN derivate din gazdă (și fragmente mici de ADN) găsite în virioni sunt considerate incluziuni incidentale.

Există două proteine de înveliș: SU (suprafață) și TM (transmembranar) codificate de gena virală *env*. Există 3-6 proteine structurale interne, neglicozilate codificate de gena *gag*. Acestea sunt, în ordinea de la capătul amino-terminal, (1) MA (matricea), (2) în unele virusuri o proteină cu funcție nedeterminată, (3) CA (proteina de capsidă) și (4) NC (nucleocapsida). Alte proteine sunt o protează (PR, codificată de gena *pro*), o transcriptază inversă (RT, codificată de gena *pol*) și o integrază (IN, codificată de gena *pol*).

Valorile aproximative ale proteinelor virale sunt: MA - 17 kDa; CA - 24 kDa; NC 7-11 kDa; p6 - 6 kDa; PR - 14 kDa; RT - 66 kDa; DU (cu excepția lentivirusurilor primatelor), 14 kDa; IN - 32 kDa; SU - 120 kDa; și TM - 41 kDa. Genomul are o dimensiune de aproximativ 9,3 kb (un monomer).

Retrovirusurile complexe din genurile *Deltaretrovirus*, *Epsilonretrovirus*, *Lentivirus* și *Spumavirus* codifică și proteinele nestructurale. Multe dintre aceste virusuri codifică transactivatorii transcripționali, necesari pentru exprimarea promotorilor LTR sau a proteinelor necesare pentru exportul de ARN din nucleu.

Lipidele reprezintă aproximativ 35% din greutatea uscată a virionului. Acestea sunt derivate din membrana plasmatică a celulei gazdă.

Virionii sunt compuși din aproximativ 3% carbohidrați. Această valoare variază, în funcție de virus. Cel puțin una (SU) și de obicei, ambele proteine de înveliș sunt glicozilate. Glicolipidele și unele glicoproteine se găsesc, de asemenea, în învelișul viral.

Replicarea

Intrarea în celula gazdă este mediată de interacțiunea dintre glicoproteina SU a virionului și receptorii specifici de la suprafața celulei gazdă (fig. 1.5), rezultând fuziunea anvelopei virale cu membrana plasmatică, fie direct, fie după endocitoză.

Specificitatea receptorilor de suprafață celulară definesc atât susceptibilitatea speciilor gazdă, cât și tropismul celular. De exemplu, lentivirusurile inductoare de imunodeficiență cum ar fi *virusul imunodeficienței feline* și *virusul imunodeficienței umane* sunt capabile de a lega, intra și infecta ambele monocite/macrofage și limfocite T CD4+ de

la gazdele lor (pisici și oameni), în timp ce un lentivirus care induce inflamația, cum este *virusul artritei encefalitei caprine* va infecta numai monocitele/macrofagele de capră și nu limfocitele T CD4+. Aderența virusului este urmată de fuziunea membranelor celulare-virus-gază, facilitând inserarea miezului virusului în citoplasma celulară. Virionii intră în celulă prin fuziune, mai rar, intrarea în celule fiind mediată de endocitoză. Complexul de bază al replicării retrovirusurilor constă în genomul ARN diploid, enzimele revers transcriptază și integrază și proteinele *gag*.

După intrarea virusului în citoplasmă, enzima revers transcriptaza sintetizează o copie de ADN a genomului de ARN cu un singur lanț, pozitiv (+), printr-un mecanism molecular complex. Un ARN de transport derivat din celula gazdă (tRNA) servește ca un primer ARN pentru enzima revers transcriptază prin legarea în apropierea regiunii U5 a ARN-ului viral. Fiecare retrovirus are un tARN special pentru amorsare. Enzima multifuncțională revers transcriptaza sintetizează o catenă complementară de ADN R-U5 pentru a forma un hibrid ARN-ului (/) ADN-pozitiv (+) cu catenă negativă la capătul 5' al genomului viral.

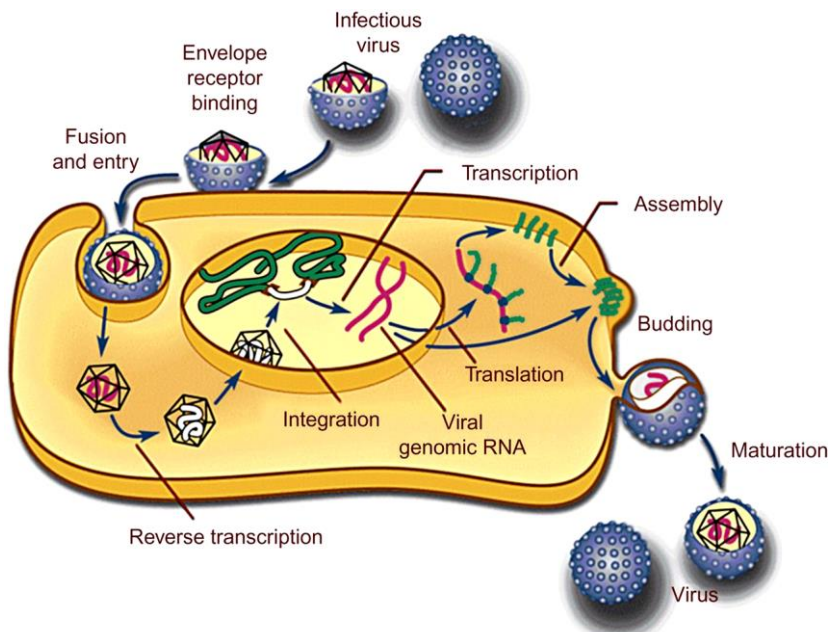


Figura 1.5 Ciclul de replicare a retransvirusurilor (după Coffin, 1996)

Figure 1.5 Cycle of retroviruses (from Coffin, 1996)

<https://veteriankey.com/retroviridae-2>

Virusurile infecțioase au patru gene majore care codifică proteinele virionale în ordinea: 5'-*gag-pro-pol-env*-3'. Unele retrovirusuri conțin gene care codifică proteine non-structurale importante pentru reglarea expresiei genelor și replicarea virusului. Alții au secvențe derivate din celule cu rol în patogenează. Aceste secvențe celulare sunt fie inserate într-un genom retroviral complet (de exemplu, unele tulpini ale *virusului sarcomului Rous*), fie substituibile pentru secvențele virale șterse (de exemplu, unele izolate ale *virusului*

sarcomului murinic). Astfel de ștergeri fac ca în timpul replicării virusul să sufere mutații. În multe cazuri, secvențele derivate din celule formează o genă fuzionată cu o genă structurală virală, care apoi este transformată într-o proteină himerică (de exemplu, proteina *gag-onc*).

Pentru membrii subfamiliei *Orthoretrovirinae*, replicarea începe cu transcripția inversă (prin RT) a ARN-ului virional din cADN folosind capătul 3' al ARNm ca primer pentru sinteza unui transcript de sens. Produsul inițial scurt (la capătul 5' al genomului) transferă și primește o sinteză suplimentară de ADNc la capătul 3' al genomului în virtutea secvențelor duplicate la capetele ARN virale. Sinteza cADN implică digestia concomitentă a ARN-ului viral (activitatea RNase H a proteinei RT). Un produs al acestei hidrolize servește pentru a primi sinteza ADNc pozitivă sensibilă pe copii ADN sensibil. În forma finală, dsADN liniar derivat din genomul ssARN viral conține repetiții terminale lungi (LTR) compuse din secvențe unice din capetele 3' (U3) și 5' (U5) ale ARN-ului viral care flanchează o secvență de repetare găsit aproape de ambele capete ale ARN-lui.

Procesul de transcriere inversă este caracterizat printr-o frecvență ridicată de recombinare datorată transferului RT de la un ARN-șablon la celălalt. Se consideră că transcrierea inversă urmează aceeași cale la toți membrii familiei. Rata ridicată a variațiilor genetice *in vivo* poate duce la formarea unei quasispecies care constă dintr-un număr mare de virioni diferiți din punct de vedere genetic.

Mutațiile stau la baza selecției naturale și susțin capacitatea lentivirusurilor de a evita sistemul imunitar. La fel ca în cazul altor retrovirusuri, cele mai multe mutații ale SRLV sunt produse în etapa de transcriere inversă a ciclului viral. Cea mai proeminentă sursă de variație este atribuită enzimei revers transcriptază (RT), care datorită lipsei unei capacități de corecție conduce la o rată ridicată de eroare (0,2-2 mutații per genom pe ciclu) (Ojosnegros ș.a., 2011, p. 203-215; Roberts ș.a., 1988, p. 1171-1173). Această fidelitate extrem de scăzută ar putea explica nivelurile extrem de ridicate ale variațiilor genetice observate *in vivo*.

ADN-ul retroviral devine integrat în ADN-ul cromozomial al gazdei pentru a forma un provirus printr-un mecanism care implică proteina virală IN. Capetele ADN-ului viral sunt legate de ADN-ul celular, implicând îndepărtarea a două baze de la capetele ADN-ului viral liniar și generarea unei dublări scurte a secvențelor celulare la locul de integrare. ADN-ul viral se poate integra în multe situsuri ale genomului celular. Cu toate acestea, odată integrată, o secvență este aparent incapabilă de transpunere ulterioară în aceeași celulă. Integrarea este o condiție prealabilă pentru replicarea virusului.

Diferitele retrovirusuri pot avea preferințe distincte în selecția locului de integrare, HIV-1 tinde să fie inserat în secvențele genei, în timp ce *virusurile leucemice murine* (MLV) preferă regiunile de lângă începutul genelor transcrise.

Provirusul integrat este transcris de ARN polimeraza II celulară în specii de ARN virional și ARNm ca răspuns la semnalele transcripționale în loturile virale LTR. La unele gene, transcripția este de asemenea reglată de către transactivatoare codate de virus. Există mai multe clase de ARNm în funcție de virus și de harta genetică. Un ARNm cuprinzând genomul întreg servește pentru translația genelor *gag*, *pro* și *pol* (poziționate în jumătatea

5'-a ARN-ului). Acest lucru are ca rezultat formarea precursorilor de poliproteină care sunt scindați pentru a se obține proteinele structurale PR, RT și, respectiv, IN. Un ARNm mai mic format din capătul 5' al genomului îmbinat cu secvențe de la capătul 3' al genomului și incluzând gena *env* și regiunile U3 și R, este tradus în precursorul proteinelor de înveliș. În virusurile care conțin gene suplimentare, se mai fac și alte forme de ARNm split; toate aceste ARNm-uri împărtășesc o secvență comună la capetele lor 5'.

Capsidele se assemblează fie la membrana plasmatică (pentru majoritatea genelor), fie ca particule intracitoplasmice (pentru membrii genurilor *Betaretrovirus* și *Spumavirus*) și sunt eliberate din celulă, printr-un proces de înmugurire. În mugurirea pare să apară preferențial la microdomenii de membrană specializate cunoscute sub denumirea de „plute de lipide”.

1.3 Răspunsul imun al organismului animal la infecția cu virusul artritei encefalitei caprine

Infecția cauzată de virusul artritei encefalitei caprine (CAEV) induce atât un răspuns imun înăscut cât și unul adaptativ, dobândit. Macrofagele sunt celulele sistemului imunitar care acționează ca celule prezentatoare de antigen pentru stimularea răspunsului limfocitelor T. Infecția CAEV afectează funcția macrofagelor, modificând tipul de răspuns imun indus.

Unul din cei mai importanți mediatori ai imunității înăscute este interferonul de tip I (IFN). Ca și celelalte retrovirusuri, SRLVs micșorează răspunsul imun al celulelor infectate, cu sinteză scăzută de IFN de tip I (Narayan ș.a., 1985). IFN de tip I interferează cu proliferarea și diferențierea monocitelor, tratamentul cu IFN de tip I având efect inhibitor pentru CAEV, cauzând atât reduceri ale încărcăturii virale cât și diminuări ale dezvoltării patologiei (Juste ș.a., 2000).

Răspunsul imun adaptativ la infecția cu SRLVs este atât de tip umoral cât și de tip celular. În cazul infecției naturale răspunsul imun poate dura câteva luni, în timp ce în cazul infecției experimentale răspunsul imun poate fi detectat la 4 zile post infecție (Bertoni ș.a., 2010). Infecția urmată de apariția de anticorpi specifici pentru toate tipurile de proteine virale, anticorpii neutralizanți anti-ENV blocând legarea de receptorul celular și fuziunea membranelor. Producerea anticorpilor neutralizanți este lentă, cu afinitate și titru scăzute.

Complexele virion - anticorp pot fi internalizate datorită interacțiunilor dintre receptorii pentru fragmentul Fc al anticorpilor, mai degrabă decât între receptorii celulari și ENV. Eliberarea ulterioară a virionului din complex poate fi urmată de infectarea celulei. Aceasta permite creșterea eficienței infecției și, poate crește tropismul virusurilor pentru aceste tipuri de celule. Într-adevăr, rezultatele testelor de neutralizare MVV variază în funcție de tipul celulei utilizate (fibroblaste sau macrofage) datorate mai degrabă întârzierii apariției anticorpilor neutralizanți decât inhibării replicării virale în macrofage (Kennedy-Stoskopf ș.a., 1986; Jolly și Narayan, 1989; Jolly ș.a., 1989). Testele pot fi, de asemenea, afectate și de prezența complementului. Îmbunătățirea producerii de anticorpi și creșterea

eficienței acestora post infecție au fost documentate pentru alte lentivirusuri (Grund ș.a., 1996; Beck ș.a., 2008).

Ambele răspunsuri IgM și IgG sunt induse după infecția cu SLVs, dar numai la ovine sunt detectate răspunsurile IgG1 anti-MVV (Mehta ș.a., 1974; Bird ș.a., 1995), în timp ce la caprinele infectate cu CAEV este indus un răspuns dominat de IgG1 (Trujillo ș.a., 2004).

La rumegătoare, răspunsurile IgG2 anticorpi mediază funcțiile efectoare ale citotoxicității mediate de anticorpi (ADCC). Într-adevăr, la ovine, după infecția naturală, nu se detectează anticorpi anti-ENV care mediază ADCC (Singh ș.a., 2006). La caprine, animalele care au prezentat un răspuns de tip limfocite T CD4+ (Cheevers ș.a., 1997), asociat cu un răspuns umoral puternic mediat de anticorpi IgG1 la CAEV, au prezentat semne clinice de artrită, în timp ce animalele cu un răspuns umoral mixt, mediat de IgG1 și IgG2, rămân fără semne clinice, ceea ce sugerează că anticorpul IgG2 anti-SRLV protejează împotriva evoluției patologiei (Trujillo ș.a., 2004), și că acest lucru poate fi legat de funcția lor efectoare.

Există, de asemenea, dovezi că în organele afectate răspunsul imun poate apare divizat. De exemplu, la caprinele cu artrită pot exista zone în articulații cu răspunsuri înalte de tip IFN-gamma, de tip Th1, în timp ce în alte zone din aceeași articulație pot exista acumulări de plasmocite, sugerând răspunsuri dominate de limfocite Th2 (Lechner ș.a., 1997). Dacă animalele sunt imunosupresate, atât patologia, cât și ușurința izolării virale sunt reduse (McGuitre 1987; Nathanson ș.a., 1976).

A fost sugerat că auto-antigenele ar putea fi, de asemenea, implicate, dar acest lucru nu a fost niciodată demonstrat pentru antigenele SNC (Panitch ș.a., 1976; Davies ș.a., 1996). Deși, anticorpul specific pentru antigenul comun implicat în artrita reumatoidă au fost confirmați, a fost demonstrată lipsa asocierii cu semnele clinice de boală (Harkiss ș.a., 1993). Prezența unui nivel scăzut al replicării virale poate fi datorat progresiei foarte lente a bolii. Într-adevăr, nivelul de replicare virală și de antigen sunt direct proporționale cu evoluția patologiei.

Doar în localizarea mamară și numai în stadiile tardive ale bolii au fost observate niveluri ridicate de celule infectate și virus liber în lichidele pulmonare (Brodie ș.a., 1992; Zhang ș.a., 2000; Ravazzolo ș.a., 2006; McNelly ș.a., 2007; Herrmann-Hoesing ș.a., 2009).

Răspunsurile limfocitelor T proliferative și citotoxice (ambele răspunsuri de limfocite T CD4 + și CD8 +) sunt induse după infecția cu SRLV și, în ciuda prezenței lor în timpul infecției persistente, virusul nu este eliminat (Bertoni ș.a., 2010). În stadiile tardive există dovezi că răspunsul proliferativ al limfocitelor T scade datorită reducerii funcției de prezentare a antigenului (expresia CD8+ este redusă) (Reina ș.a., 2007).

Virusul are capacitatea de a evita un răspuns imun adecvat prin mai multe mecanisme care sunt prezentate mai jos (Narayan, 1988; Perk, 1995):

1. Prin infectarea celulelor din linia de monocite-macrofage, virusul neutralizează unul din mecanismele de apărare nespecifice ale gazdei.

2. Prin infectarea celulelor stem din măduva osoasă și prin limitarea expresiei genelor virale în aceste celule, recunoașterea acestor celule de către celulele citotoxice este blocată și ele rămân un rezervor pentru virusul din organism.

3. ADN-ul proviral integrat în celulele gazdă poate rămâne neexprimat într-o stare de latență pentru lungi perioade de timp.

4. CAEV nu induce anticorpi neutralizanți în timpul infecției.

Acești factori care duc la latență, persistență și eventuală diseminare pe tot parcursul vieții gazdei fac virusul CAE să fie greu de controlat, fiind responsabili pentru evoluția unor boli cronice, dureroase, debilitante și asimptomatice la animalele expuse infecției.

Seroconversia intermitentă a anticorpilor anti-CAEV

Anticorpii anti-CAEV sunt sintetizați post infecție, apariția seroconversiei variind de la câteva săptămâni la câteva luni. În general, în urma seroconversiei titrul de anticorpi anti-CAEV crește, atingând un maxim, apoi scade până la un nivel mai mic dar stabil (de Andres ș.a., 2005). Unele studii au raportat un grad de intermitență al sintezei anticorpilor care ar putea fi cauza unor rezultate fals negative în testele seologice (Barquero ș.a., 2013; Rimstad ș.a., 1993). Unele animale pot prezenta rezultate diferite la testele serologice, dar motivele acestor variații între pozitivitate și negativitate nu sunt bine înțelese (Hanson ș.a., 1996). Titruri scăzute de anticorpi poate fi observate și după apariția semnelor clinice (Cruz ș.a., 2009).

Proprietăți biologice

Retrovirusurile sunt distribuite pe scară largă ca agenți infecțioși exogeni ai vertebratelor. Provirusurile endogene care au rezultat la un moment dat de la infecția celulelor de linie germinativă sunt moștenite ca gene mentale. Acestea apar pe scară largă în rândul vertebratelor și pot constitui până la 10% din ADN-ul genomic. Marea majoritate au suferit mutații de inactivare și nu pot produce virus infectant. Câteva pot exercita efecte biologice semnificative după activare, fie prin replicare într-o manieră care nu poate fi distinsă de virusurile exogene sau după recombinarea cu virusul competent pentru replicare.

Transmiterea retrovirusurilor se realizează pe diverse căi, inclusiv sânge, salivă, contact sexual etc., și prin infecție directă a embrionului în curs de dezvoltare sau prin intermediul laptelui. Retrovirusurile endogene sunt transmise pe verticală prin moștenirea provirusurilor.

Caracteristicile biologice cheie ale retrovirusurilor includ capacitatea de a suferi mutații și recombinări, de a dobândi și de a modifica secvențele genetice derivate din gazdă, de a se integra covalent în genomul celulei gazdă și de a activa sau inactiva genele gazdă specifice în apropierea locului de integrare a acestora. Aceste caracteristici ale biologiei retrovirusurilor au fost exploatate de cercetători pentru a genera vectori care livrează transgene nonvirale (terapia genică). În ultimii ani, multe din detaliile biologiei retrovirusurilor au fost obținute din cercetări intense, concentrate pe *virusul imunodeficienței umane* (HIV).

1.4 Rezistența virusului la factorii de mediu

Densitatea flotantă a virionului este de 1,16-1,18 g cm³ în zaharoză. Virionii sunt sensibili la detergenți, formaldehidă și căldură, fiind distruși la temperaturi peste 56°C.

Glicoproteinele de suprafață pot fi îndepărtate parțial prin enzime proteolitice. Virionii sunt relativ rezistenți la lumina UV.

1.5 Cultivarea virusului

Izolarea virală este diagnosticul de certitudine în confirmarea infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine* (Narayan și Cork, 1990).

Virusul poate fi izolat pe explante de țesut (Coackley ș.a., 1981) sau co-cultivare a celulelor susceptibile infectate (Narayan ș.a., 1983).

Culturile celulare obținute arată formarea de sinciții, efectul citopatic fiind caracteristic infecției produse de CAEV (Coackely ș.a., 1981).

Pentru diagnosticarea infecției, se recomandă folosirea de fibroblaste ale celulelor sinoviale ca fiind cele mai adecvate pentru izolarea *virusului artritei encefalitei caprine* (Knowles ș.a., 1992).

CAPITOLUL 2. EPIDEMIOLOGIA ȘI PATOGENEZA INFECȚIEI CU VIRUSUL ARTRITEI ENCEFALITEI CAPRINE (CAEV)

CHAPTER 2. CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS VIRUS (CAEV) EPIDEMIOLOGY AND PATHOGENESIS

2.1 Caractere epidemiologice

Lentivirusurile rumegătoarelor mici (SRLVs) au fost identificate în majoritatea țărilor unde creșterea acestora este o ocupație importantă. Distribuția CAEV este mai ridicată în țările industrializate și pare să fi coincis cu mișcarea internațională a raselor de capre pentru lapte.

Prezența virusului a fost semnalată la caprele din întreaga lume, în Marea Britanie (Dawson ș.a., 1983), Australia (Ellis ș.a., 1983), Italia (Agrimi ș.a., 1987), Elveția (Krieg și Peterhans, 1990), Polonia (Kaba ș.a., 1997; Reichert și Kozaczyński, 2001), Mexic (Torres-Acosta ș.a., 2003) și Brazilia (Bandeira ș.a., 2009).

2.2 Receptivitate

Virusul CAE este capabil să infecteze caprinele și ocazional ovinele și alte rumegătoare înrudite (Pasick, 1998; Reina ș.a., 2006). SRLV și/sau acidul nucleic SRLV au fost găsite la o mare varietate de rumegătoare mici, inclusiv la ibexul sălbatic (Erhouma ș.a., 2008) și la muflon (Guiguen ș.a., 2000; Leroux ș.a., 2010). Aceste animale par a fi gazde permissive și virusul poate trece bariera de specie.

Infecția cu SRLV la bovine a fost de asemenea indusă experimental și a rezultat un grad scăzut al infecției care ulterior a fost eliminată (Morin ș.a., 2003).

2.2.1 Factori intrinseci

Cele mai sensibile la infecția cu virusul CAE sunt caprele domestice, mai ales cele din rasele specializate pentru producția de lapte cum ar fi: Saanen, Alpina franceză care provin din efective mari, preponderent din complexe de creștere intensivă. Sensibilitate mai prezintă și animalele din rasele specializate nou introduse într-un efectiv datorită scăderii imunității, a stresului de acomodare, a stresului de gestație și de lactație. Odată infectate, indiferent de rasă sau de vârstă, infecția persistă pe toată durata de viață a animalului.

2.2.2 Factori extrinseci

Evoluția artritei encefalitei caprine nu este condiționată de anotimp, putând apare în oricare lună din an. Boala este semnalată cu o frecvență mai mare la animalele crescute

în sistem intensiv, în adăposturi supraaglomerate, contactul apropiat și prelungit cu animalele infectate fiind un factor determinant în apariția bolii (Bélanger și Leboeuf, 1993; Callado ș.a., 2001).

Condițiile de zooigenă precare, presiunea crescută a infecției, perioadele lungi de înlocuire sunt factori ce determină o seroprevalență crescută la nivel de turmă (Blacklaws ș.a., 2004; Peterhans ș.a., 2004; Reina ș.a., 2009).

2.3 Sursele de infecție și căile de pătrundere, transmitere și contaminare

Sursa primară de infecție o reprezintă colostrul și laptele infectate cu *virusul artritei encefalitei caprine* provenit de la caprinele la care infecția este prezentă. Sunt menționate ca posibile surse de infecție secrețiile respiratorii, materialul seminal provenit de la animalele infectate.

Cel mai frecvent lentivirusurile rumegătoarelor mici se transmit pe cale lactogenă prin intermediul colostrului și/sau a laptelui, fiind demonstrată prezența virusului în glanda mamară și secrețiile lactate (Bolea ș.a., 2006). Lactația implică și un contact strâns între animalele infectate și descendenții acestora, 78 % din iezii care au fost crescuți lângă mame, alăptați și/sau hrăniți cu lapte de colectură devenind seropozitivi pentru CAEV (Adams ș.a., 1980).

Contactul direct dintre membrii turmei, prin coabitarea animalelor sănătoase cu cele infectate, pe termen lung, mai ales în condiții de creștere intensivă (Peterhans ș.a., 2004) are un rol important în transmiterea orizontală a infecției.

Virusul poate pătrunde și pe cale respiratorie, prin contact direct, prin aspirația de picături aerosolizate provenite din tractul respirator sau conjunctiva animalelor infectate (Blacklaws ș.a., 2004; McNeilly ș.a., 2008; McNeilly ș.a., 2007; Niesalla ș.a., 2008). Prezența provirusului în probele de aer expirat de către animalele infectate nu a fost constantă, fapt ce sugerează necesitatea contactului apropiat și expunerea pe termen lung ca fiind importante pentru transmiterea orizontală (Villoria ș.a., 2013).

Cele două căi de contaminare nu se exclud reciproc, cel mai probabil, după ingestia colostrului infectat, iezii sunt expuși acțiunii virusului când sunt crescuți împreună cu animalele adulte infectate (transmitere orizontală) (Brajon ș.a., 2012; Desrosiers, 2007).

O altă posibilă cale de transmitere a bolii este cea verticală, transmiterea uterină, dat fiind faptul că ADN-ul proviral CAEV a fost detectat în tractul genital femel, celulele epiteliului uterin fiind sensibile la infecția in-vivo (Barlough ș.a., 1994; Leroux ș.a., 1997a; Fieni ș.a., 2003; Cortez Romero ș.a., 2006; Cortez Romero ș.a., 2011; Ali Al Ahmad ș.a., 2012), precum și prin folosirea unui material seminal de la țapii infectați, ADN-ul proviral fiind găsit în tractul genital (Ali Al Ahmad ș.a., 2008; Peterson ș.a., 2008) și în materialul seminal (Ali Al Ahmad ș.a., 2008; Peterson ș.a., 2008; Travassos ș.a., 1999; Andrioli ș.a., 1999; Andrioli ș.a., 2006; Cruz ș.a., 2009; Paula ș.a., 2009).

Transmiterea prin contact indirect prin folosirea dispozitivelor de muls contaminate este o altă posibilă cale de contaminare, fiind observată o predispoziție crescută la caprele de lapte (Blacklaws ș.a., 2004; Peterhans ș.a., 2004). Și contactul cu rumegătoarele sălbatice

poate fi una din căile de transmitere ale infecției, prezența virusului fiind semnalată și la capra sălbatică (*Oreamnos americanus*) (Minardi da Cruz ș.a., 2013).

Studiile efectuate unde s-a folosit o doză infectantă cu un nivel foarte scăzut administrată intravenos indică o transmisie iatrogenică prin intermediul acelor, seringilor și instrumentelor contaminate refolosite.

În concluzie există un consens că principală cale de transmitere este cea lactogenă verticală și că transmiterea orizontală, o dată luată în considerare ar putea fi un traseu complementar, ca un mecanism de rezervă când evoluția este încetinită de factorii de mediu sau de management (Minguijon ș.a., 2015).

2.4 Dinamica epidemiologică

Artrita encefalită caprină este una dintre cele mai importante boli virale ale caprelor, răspândită pe toate continentele, cu pierderi economice, cu valori ale seroprevalenței variabile între 0,2-30% în China (Qu ș.a., 2005) și 86% în Norvegia (Nord ș.a., 1998). Infecția a fost semnalată și în țări cum ar fi: Coreea (2,73%) (Oem ș.a., 2012), Somalia (6,0%) (Ghanem și Heybe, 2009), Italia (6,58%) (Gufler ș.a., 2007), Tailanda (12,4-47%) (Ratanapob ș.a., 2009), Spania (20,6%) (Sanchez ș.a., 2001), Iordania (23,2%) (Al-Qudah ș.a., 2006), Polonia (25-30%) (Kaba ș.a., 2011), Elveția (26,9%) (Brulisauer ș.a., 2005), Statele Unite (31%) (Rowe ș.a., 1992b), România (Enache ș.a., 2017), Brazilia (35%) (Bandeira ș.a., 2009), Marea Britanie (54,5%) (Synge și Ritchie 2001), Mexic (56,8%) (Torres-Acosta ș.a., 2003) și Japonia (63,3%) (Konishi ș.a., 2004).

Conform statisticii furnizate de O.I.E., în perioada octombrie 2014-iunie 2018, deși încă din 2014 se suspiciunea prezența bolii pe teritoriul țării noastre, primul focar de artrită encefalită caprină a fost semnalat în anul 2017 (fig. 2.1).

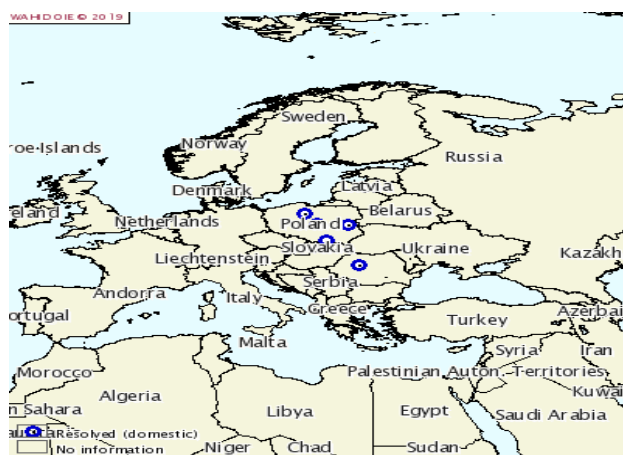


Figura 2.1 Harta de distribuție a focarelor pentru CAE în perioada iulie-decembrie 2017

Figure 2.1 CAE outbreak distribution map for second semester of 2017

(http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseaseoutbreakmaps)

Transmiterea orizontală este responsabilă de răspândirea SRLV în diferite regiuni geografice prin intermediul programelor care implică exportul și schimbul de animale.

Dovezile epidemiologice indică faptul că principala cale de transmitere a virusului este prin ingestia de către iezi de colostru și lapte de la caprinele adulte infectate (Rowe ș.a., 1997).

Toate rasele și categoriile de vârstă sunt sensibile la virus și, o dată ce apare infecția, aceasta persistă pe tot parcursul vieții animalului. Deși majoritatea caprinelor infectate rămân asimptomatice, purtătorii elimină virusul continuu ducând la răspândirea infecției în toată turma.

2.5 Mecanismul patogenetic

Până în prezent încă nu este elucidat dacă SRLV este transmis între animale ca virion liber sau ca celule infectante, macrofage sau celule epiteliale. Principalele căi de transmitere sunt prin colostru și prin secrețiile respiratorii, dar nu este exclusă nici transmiterea verticală, prin actul mamei.

În cazul infecției naturale, odată intrat în organism, virusul are tropism pentru linia de monocite (Gendelman ș.a., 1986; Gorrell ș.a., 1992) și pentru celulele dendritice de pe suprafața mucoasei respiratorii sau intestinale (figura 2.2).

Celulele dendritice migrează în limfonoduri, virusul este transferat în macrofagele care ies din limfonoduri și determină o infecție sistemică (Ryan ș.a., 2000; McNeilly ș.a., 2008).

Macrofagele infectate ajung în măduva osoasă, infectează celulele stem mieloide (Gendelman ș.a., 1985) sau celulele stromale (Grossi ș.a., 2005), ceea ce permite o continuă producție de celule infectante și o prezență a infecției pe toată durata de viață a animalului.

Replicarea virusului în celulele mieloide este foarte strict controlată/restricționată (Haase ș.a., 1977; Narayan ș.a., 1983; Geballe ș.a., 1985). Monocitele din sânge sunt infectabile (virusul este prezent ca virion), dar cu un nivel foarte scăzut de transcriere virală.

Replicarea virionului începe după maturarea monocitelor și transformarea lor în macrofage. Macrofagele imature acționează ca un „cal troian” (Peluso ș.a., 1985; Haase ș.a., 1986) răspândind infecția în țesuturi, infecție care nu poate fi detectată sau eliminată de sistemul imun.

O dată ajunse în țesuturi, aceste celule devin mature și permit replicarea virionului. Replicarea este selectivă, în ceea ce privește tipul de macrofage și țesuturile infectate care vor exprima semnele clinice ale bolii.

Țesuturile țintă includ sinovia, glanda mamară, pulmonii și sistemul nervos central. Activarea imunității, răspunsul la antigenul viral, provoacă o reacție inflamatorie cronică care duce la apariția treptată a modificărilor patologice în țesuturi.

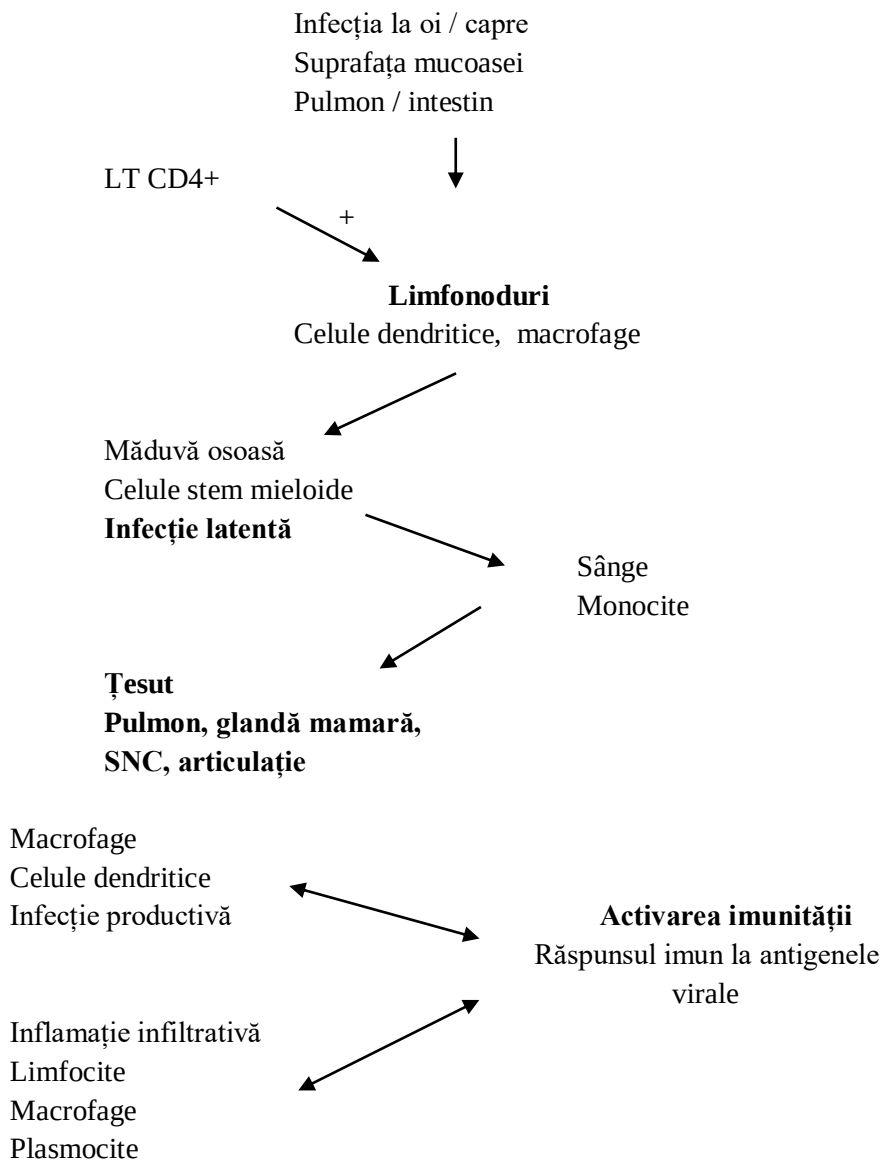


Figura 2.2 Patogeneza infecției naturale cu SRLVs (după Blacklaws, 2012)
Figure 2.2 Pathogenesis of natural infection with SRLVs (după Blacklaws, 2012)

Boala inflamatorie multi-sistemică cauzată de SRLVs este imunopatogenică. Principala modificare este infiltrarea țesuturilor de către celulele mononucleare, limfocite sau monocite, din sânge sau celule proliferative din țesuturi. Infiltratul conține toate subseturile de limfocite, macrofage și plasmocite. Când s-au acumulat suficiente limfocite, acestea se organizează în foliculi limfoizi asemănători cu limfonodurile, suprapunându-se cu apariția modificărilor specifice din țesuturi, cu distrugerea arhitecturii și funcției normale a acestora.

Semnele clinice, momentul apariției acestora și țesutul în care apar modificări depind de tulpina virală și de fondul genetic al gazdei. În unele cazuri, evoluția bolii a fost fără o patologie vizibilă, cu semne clinice slab exprimate.

Cele patru țesuturi majore afectate de SRLVs sunt articulația, sistemul nervos central, glanda mamară și pulmonul. Totuși, patologia poate fi observată și în alte organe, inclusiv rinichi, ficat și cord.

În cazul afectării pulmonare este prezentă o pneumonie interstițială limfocitară în care predomină limfocitele T, cu hiperplazia musculaturii netede și fibroza țesutului pulmonar.

Modificările care apar în creier și măduva spinării, meningoencefalita, astrocitoza, microglioza și demielinizarea secundară focală, duc la pierderi de echilibru, ataxie și pareze, de obicei ale membrelor posterioare.

O mare parte din caprinele infectate vor prezenta o mastită nesupurativă, îndurativă.

Artrita progresivă cronică a carpului sau tarsului este prezentă cu o incidență mai ridicată la caprine. Este prezentă infiltrarea cu celule mononucleare, cu hipertrofia vililor, angiogeneză și necroza membranei sinoviale (Blacklaws ș.a., 2010).

Deși evoluția infecției este considerată a fi progresivă, în anumite situații leziunile pot regresa (van der Molen ș.a., 1987).

CAPITOLUL 3. SIMPTOMATOLOGIA ȘI MORFOPATOLOGIA ARTRITEI ENCEFALITEI CAPRINE

CHAPTER 3. CAPRIN ARTHRITIS ENCEPHALYTIS SIMPTOMATHOLOGY AND MORPHOPATOLOGY

Virusul artritei encefalitei caprine induce o infecție sistemică la caprine cu o evoluție lentă, progresivă și insiduoasă. Perioada de incubare variază în limite foarte largi.

Majoritatea caprinelor sunt infectate în perioada post natală dezvoltând semnele clinice după luni sau ani. Simptomatologia este polimorfă și este determinată de tropismul tulpinii virale pentru țesuturile țintă, de vârstă, de specia afectată, fondul genetic al rasei și al individului.

În general, leziunile majore sunt prezente la unul dintre organele de elecție, dar pot fi afectate și alte organe, la același animal, variind în severitate.

Atât la ovine cât și la caprine sindroamele respiratorii și neurologice conduc la cahexia și moartea animalului, fie prin afectarea funcției respiratorii fie prin alterarea generală a sistemului nervos.

3.1 Tabloul clinic

La caprinele infectate cu *virusul artritei encefalitei caprine* infecția evoluează în cele mai multe cazuri asimptomatic, rămânând purtătoare persistente pe durata vieții, capabile de transmitere a infecției. Datorită perioadei lungi de incubare, a evoluției lente și a caracterului pantrop al virusului, exprimarea semnelor clinice este polimorfă, cu localizări ce variază în funcție de vârstă.

La tineretul caprin leziunile majore sunt prezente la nivelul sistemului nervos central. Encefalita a fost semnalată la iezi cu vârsta de 2-6 luni (Cork ș.a., 1974; Narayan, 1985; Crawford și Adams, 1981), dar mai rar și la iezi de o lună și la animalele adulte. La iezi virusul determină inflamații ale creierului (leucoencefalomielite) care duc la ataxie progresivă, paralizie și uneori pneumonie interstițială subclinică, fără pirexie. Simptomele inițiale pot include mers vacilant, ataxie, deficiență în mers a membrilor posteriori, hipertonie, hiperreflexivitate. Majoritatea ieșilor sunt vii, consumul de apă și furaj fiind normal.

De la apariția semnelor clinice evoluția bolii este rapidă și adesea quadriplegia apare într-o săptămână (Narayan, 1985). La o parte dintre iezi afectați poate apărea depresie, orbire, nistagmus, opistotonus, torticolis, disfuncții ale nervilor faciali, disfagie, mers în manșă, pedalări în gol.

Deși animalele pot fi tratate cu medicație de susținere, leziunile neurologice sunt ireversibile și cele mai multe vor dezvolta boli secundare ce vor recomanda eutanasierea (Cork ș.a., 1974; Crawford ș.a., 1980).

Localizarea articulară a virusului este prezentă majoritar la adulte și determină poliartrite cronice, degenerative și dureroase ale articulației carpometacarpene („genunchi gras”), însoțite de sinovite și bursite prezente la 12-40% din animalele infectate (Alves, 1999).

Primele simptome includ distensia capsulei articulare, animalele afectate prezintă dificultate în locomoție, șchiopătură de diferite grade. Deși articulația carpală este cel mai frecvent afectată, alte posibile localizări sunt la nivelul articulației metacarpale, articulației tarsale și metatarsale, precum și la nivelul ligamentului nugal sau la nivelul joncțiunilor vertebrale. Evoluția bolii este lentă și întotdeauna progresivă. În stadiile avansate animalele vor merge cu membrul anterior flexat, până la refuzul deplasării.

Boala este prezentă în general la capre cu vârsta cuprinsă între 2–9 ani (Narayan, 1985; Crawford și Adams, 1981). Crawford și colaboratorii au demonstrat că modificările țesutului conjunctiv la caprele cu artită au fost semnificative, cu afectarea articulației, a ligamentelor tendinoase și a bursei sinoviale. Articulația este mărită în volum, dureroasă, animalul se deplasează cu greu. Totodată apare anchiloza articulației cu imposibilitatea flexării, avînd ca rezultat refuzul deplasării. Întrucât animalele nu se pot deplasa în zona de furajare și adăpare, pierderile în greutate sunt semnificative, iar slăbirea până la cahexie duce la sacrificarea prematură a animalelor.

La caprele adulte cu localizarea respiratorie a virusului, manifestările clinice sunt similare cu cele pentru *maedi visna* la ovine, deși la caprine simptomatologia nu este așa de evidentă. Animalele prezintă o tuse uscată, mai ales la efort, slăbesc, „se usucă pe picioare”.

Pneumonia interstițială are o evoluție progresivă, însoțită și de cahexie și este prezentă la mai puțin de 10% din animalele infectate (Crawford și Adams, 1981; Narayan și Cork, 1990; Zink ș.a., 1990).

De asemenea, infecția cu *virusul artritei encefalitei caprine* poate determina mastite, cu schimbarea consistenței glandei mamare, prezența nodulilor și indurarea parenchimului mamar (mastită indurativă), cu modificări cantitative și ale caracteristicilor laptelui, diagnosticată la 6,8-19,7% din animalele infectate (Birgel Junior ș.a., 2007). Caracterele organoleptice ale laptelui nu sunt modificate și, adesea, singura modalitate de a suspecta o problemă este creșterea suboptimală a iezilor corelată cu reducerea producției de lapte (Sanchez ș.a., 2001).

Ocazional la caprinele seropozitive a fost înregistrată o rată scăzută a fertilității, descendenți subponderali cu o creștere în greutate sub valoarea normală a rasei.

3.2 Tabloul anatomopatologic

Diagnosticul post-mortem se bazează pe leziunile tipice, dar non-patognomonice care apar la nivelul țesuturilor țintă ale virusului CAE: sistemul nervos central, articulația, pulmonul și glanda mamară.

În forma neurologică prezentă la iezi, congestia foițelor meningeale și a creierului, în special în regiunea mezencefalului, pot fi observate împreună cu congestie și edem pulmonar. Leziunea primară din creier sau măduva spinării este encefalita non-supurativă,

predominant periventriculară și paraventriculară însoțită de demielinizare (Sigurdsson ș.a., 1957, Benavides ș.a., 2009). Leziunile microscopice tipice din CAE sunt focale, localizate la nivelul mezencefalului și măduvei spinării, fiind reprezentate de demielinizare (Jubb ș.a., 1997) și de agregatele perivascularare formate din celule inflamatorii (Gonzalez ș.a., 1987, Sanna ș.a., 1999). În infiltratele din plexul coloid se mai pot observa celule mononucleare care se pot organiza în foliculi limfoizi ectopici (Cutlip ș.a., 1979).

Sunt descrise trei modele de distribuție ale infiltratului celular, uneori putând fi prezente la același animal (Beniavides ș.a., 2009):

1) modelul vascular, când celulele mononucleare sunt dispuse în jurul vaselor de sânge sub formă de manșon;

2) modelul infiltrativ, când infiltratul din neuroparenchim este însoțit și de manșoane perivascularare;

3) malacia, în care principala leziune este demielinizarea. Sunt majoritare zone focale, asimetrice, maronii în materia albă a creierului și a măduvei spinale, precum și la nivelul suprafeței ventriculare. Meningele poate fi spongios, și mai poate fi observată și demielinizare secundară în țesuturile sistemului nervos central.

În forma articulară, articulația afectată va fi mărită în volum datorită sinovitei progresive cronice, iar în cazurile avansate cu fibroza capsulei articulare, apar eroziuni și distrucții ale cartilajelor.

Crawford și colaboratorii au demonstrat că la caprele cu artită modificările produse la nivelul țesuturilor sunt majore afectând articulația, tendoanele și bursa sinovială. Pot fi prezente calcificări ale capsulei articulare, tecii tendonului și a bursei sinoviale. În cazurile severe apar distrucții ale cartilajului, cu ruperi ale ligamentelor, tendoanelor și formarea de osteofite periarticulare. La nivel de țesut sinovial s-a constatat hiperplazia celulelor sinoviale, cu precădere a vililor sinovialei, acumularea perivasculară a limfocitelor și a plasmocitelor, necroze, calcificări ale capsulei articulare și fibroze extinse ale țesuturilor periarticulare toate acestea fiind înconjurate de zone de infiltrație limfocitară intensă (Crawford ș.a., 1980).

În forma respiratorie a artritei encefalitei caprine leziunea principală este pneumonia interstițială limfocitară. Pulmonii sunt de culoare gri-roz cu multiple focare mici, albe, nu colabează, păstrează amprenta coastelor, sunt grei și la proba paharului, nu plutesc. Limfonodurile bronhiale sunt mărite în volum. Din punct de vedere microscopic, există un infiltrat difuz cu limfocite și macrofage în stroma pulmonară.

Când este afectată glanda mamară este prezentă mastita indurativă, iar limfonodurile aferente sunt mărite în volum. Parenchimul mamar este modificat, este dur și sunt prezenți noduli de mărimi variabile.

Histologic se observă o mastită interstițială difuză periacinară, cu fibroză care modifică structura acinară normală (Bolea ș.a., 2006). De asemenea sunt prezenți foliculi limfoizi hiperplastici diseminați în țesutul parenchimal la nivelul acinilor și în jurul canalelor galactofore și infiltrații cu celule mononucleare ale stromei periductale care obliterează țesutul mamar normal.

CAPITOLUL 4. DIAGNOSTIC, SUPRAVEGHERE ȘI CONTROL ÎN ARTRITA ENCEFALITA CAPRINĂ

CHAPTER 4. DIAGNOSIS, CONTROL AND SURVEILLANCE IN CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS

Diagnosticul bolilor infecțioase este adesea dificil de stabilit datorită neclarității sau lipsei simptomelor, precum și datorită unor evoluții atipice. Stabilirea unui diagnostic corect este o etapă importantă, orice eroare de diagnostic având ca rezultat un prognostic grav, soldat în final cu moartea animalului.

Diagnosticul prezumtiv este prima etapă a oricărui diagnostic și reprezintă suspiciunea evoluției unei anumite afecțiuni. Se stabilește pe baza tabloului clinic prezent, a simptomelor subiective, al examenului obiectiv, al istoricului bolii, al antecedentelor (anamneza). Acest diagnostic poate fi confirmat sau infirmat prin investigații clinice și paraclinice suplimentare. Există cazuri în care după investigații suplimentare diagnosticul rămâne prezumtiv în continuare și/sau în observație.

Diagnosticul definitiv sau de certitudine este etapa finală a unui diagnostic. Reprezintă definirea clară a afecțiunii de care suferă pacientul și include diagnosticul diferențial. Acest diagnostic este stabilit în urma investigațiilor clinice, de specialitate și paraclinice. Diagnosticul definitiv poate fi stabilit adesea doar în baza simptomatologiei clinice.

Diagnosticul diferențial este etapa de diagnostic în care diagnosticul prezumtiv este comparat cu tablourile clinice și paraclinice aferente altor afecțiuni cu simptomatologie asemănătoare.

Caprele pot fi suspectate de infecții cu CAEV în cazul pierderii în greutate însoțită de tulburări respiratorii cu o evoluție lentă și progresivă, precum și a prezenței simptomelor de artrită și mastită indurativă la animale cu vârsta de peste 2 ani, iar la iezii de peste 2 - 4 luni când prezintă pareze/paralizii progresive și leucoencefalomielite.

4.1 Diagnosticul diferențial

Diagnosticul diferențial se impune față de o serie de boli infecțioase sau parazitare, în funcție de simptome.

În cazul artritei diagnosticul diferențial include artrita traumatică și artrita infecțioasă produsă de *Mycoplasma spp.*

La animalele cu simptome pulmonare, cu pneumonie cu evoluție lentă și progresivă, diagnosticul diferențial include: parazitoze cu localizare pulmonară, adenomatoza pulmonară, parainfluența, pleuropneumonia contagioasă a caprelor, adenoviroza caprină, pneumonia pasteurelică, herpesviroza caprină.

Dictiocauloza și metastrongiloza evoluează vara la tineret, iar toamna și iarna la adulte, cu simptome de bronhopneumonie, cu tuse și jetaj ce conține uneori și helminți. Se confirmă larvohelminoscopic.

Adenomatoza pulmonară, sau "tumora enzootică intranasală", adenocarcinomul pulmonar este o boală infecțioasă cu evoluție endemică, ce afectează oile și caprele. Infecțiile adenovirale produc de regulă infecții inaparente și rar infecții ușoare ale aparatului respirator. Clinic simptomele bolii sunt de: slăbire, rinită, dispnee, jetaj, iar la nivelul etmoidului și a volutelor etmoidale se identifică formațiuni tumorale. Adenomatoza debutează cu rinită și jetaj sero-mucos, uneori hemoragic. Animalele strănută, respirația este dispneică, scutură din cap, prezintă epiforă, iar respirația se face bucal. Se constată scăderi ale producției de lapte și cahexie. La auscultația pulmonului se identifică raluri umede. Moartea se produce în 3-6 luni de la apariția simptomelor de boală (Perianu, 2012). Boala apare la oile și caprele cu vârsta de 1-4 ani. Un rol important în apariția bolii îl constituie factorii favorizanți ca: deplasările obositoare, intemperiiile, infestațiile parazitare. Animalele bolnave sunt considerate surse de infecție. Acestea elimină virusul prin jetaj și salivă. Calea de transmitere a bolii se face prin aerosoli (Vasiu, 2003).

Adenoviroza evoluează simptomatic la tineret, cu bronhopneumonie acută sau cronică și diaree. La caprine este implicat *adenovirusul caprin* (*Caprine adenovirus*), care conține două antigene 1 și 2. Adenovirusurile s-au izolat de la iezi cu tulburări respiratorii ușoare, de la tineretul caprin cu afecțiuni respiratorii în forme acute sau cronice și de la caprinele adulte cu afecțiuni respiratorii. *Adenovirusul caprin* face parte din genul *Mastadenovirus*. De la unele caprine s-a izolat și *adenovirusul ovin de tip 5*. Iezii sugari în vârstă de 3 săptămâni, privați de colostru, infectați experimental, au suferit ușoare tulburări respiratorii. Tulpinile adenovirale au acțiune hemaglutinantă pentru hematiile umane, ovine, bovine, maimuță și de șobolan. Examenul anatomo-patologic identifică leziuni macroscopice cu focare de atelectazie pulmonară multiplă, edem și leziuni de pneumonie intralobulară precum și congestie în lobii diafragmatici, ce devin de consistență dură, lemnoasă, cu hiperplazia pneumocitelor și a epiteliului bronhiolar, inițial de aspect adenomatos, apoi carcinomatos. Microscopic s-au identificat denudări epiteliale în bronșiiolele terminale (Moga Mânzat ș.a., 2005).

Pleuropneumonia contagioasă a caprelor este o boală contagioasă caracterizată prin sindrom de febră, afecțiuni pulmonare (tuse, jetaj), datorate unor leziuni specifice pulmonare cu aspect fibrinos, determinate de *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides*. Are adesea o evoluție cronică la tineretul caprin, ceea ce duce la slăbire progresivă, până la cahexie. Tratamentul este în general inefficient, dar se pot încerca derivați de streptomicină. Prevenirea bolii se realizează prin măsurile nespecifice asociate cu o alimentație și condiții de întreținere adecvate.

Pasteureloza este o boală infecto-contagioasă produsă de *Pasteurella multocida* manifestată prin bronhopneumonie ca simptom principal și care afectează toate categoriile de vârstă. La iezi apar mai ales formele acute, cu respirație dispneică, jetaj, tuse, rigiditate, în timp ce la adulți, pe lângă semnele respiratorii, apar artrite, mastite, avorturi, edeme, abcese. Se confirmă bacteriologic.

Herpesviroza caprină este o boală infecțioasă virală produsă de *Caprine herpesvirus 1* (CpHV1) care afectează caprele de toate vârstele. Iezii în vârstă de 1-2 săptămâni sunt mai sensibili, infecțiile având caracter septicemic, generalizat, cu un procent ridicat de morbiditate și mortalitate. La animalele adulte boala se transmite lent și se manifestă predominant prin infecții genitale. La iezi virusul se răspândește foarte repede, ceea ce produce o boală sistemică cu morbiditate, simptomele fiind de enterită, slăbiciune progresivă și dureri abdominale. Mai poate apare conjunctivită, secreții nazale purulente, eroziuni în cavitățile nazale și orale și edem al miocardului. Iezii mor, de obicei, în decurs de 2-4 zile de la debutul infecției (Mettler ș.a., 1979). La femelele adulte, în majoritatea cazurilor infecția evoluează subclinic. Sunt prezente leziuni la nivelul mucoasei genitale, uneori cu hiperemie, edem și apariția de papule, vezicule și ulcerații (Grewal ș.a., 1986), specifice pentru vulvovaginită. La masculi evoluează în general fără semne clinice vizibile, fiind observate papule, vezicule și ulcerații la nivelul prepuțului, leziuni caracteristice ale balanopostitei. Tot la femele, mai ales în a doua jumătate a gestației, poate apare avortul, fără semne clinice vizibile sau leziuni macroscopice la fătul avortat. Forma respiratorie evoluează doar la animalele adulte, combinată cu infecții bacteriene secundare, caz în care animalele dezvoltă o pneumonie acută. Confirmarea CpHV1 se realizează prin izolare virală sau detectarea ADN-lui viral prin PCR specific. Prezența virusului în leziuni poate fi demonstrată, de asemenea, cu ajutorul imunohistochimiei sau a microscopiei electronice.

În cazul simptomelor de mastită, la animale cu vârsta de peste 2 ani, cu modificări ale formei și consistenței glandei mamare și cu scăderi ale cantității și calității laptelui, diagnosticul diferențial se impune față de: agalaxia contagioasă, mamita gangrenoasă, mastita actinobacilară.

Agalaxia contagioasă (răsfugul alb) produsă de *Mycoplasma agalactiae* este o boală infecțioasă extrem de contagioasă, specifică oilor și caprelor. Se caracterizează prin mamite, scăderea sau oprirea secreției lactate, artrite și cheratoconjunctivite. Aspectul laptelui este vâcos, culoarea este verzuie sau gălbuie și coagulează la fierbere. Tratamentul este în general inefficient și din această cauză singura măsură de prevenire este vaccinarea caprelor gestante în a doua perioadă de gestație (lunile 3-4) cu produsele Agalaxin sau Agavac.

Mamita gangrenoasă (răsfugul negru), produsă de *Staphylococcus aureus*, este o boală infecțioasă gravă, deseori mortală, care afectează caprele în lactație, caracterizată prin tulburări generale, modificări calitative și cantitative ale laptelui, consecutiv gangrenei glandei mamare. Prognosticul este grav, întrucât 50% din cazuri sfârșesc prin moarte, iar cele care se vindecă rămân tarate. Prevenirea prin vaccinare scade semnificativ șansele de apariție a bolii și, de asemenea, igiena mulsului este foarte importantă în prevenire. Diagnosticul se confirmă prin examen bacteriologic.

Actinobaciloza are ca agent etiologic *Actinobacillus ligniersii*, care determină apariția unor abcese în țesutul conjunctiv subcutanat, mai ales în zona capului și a gâtului. De asemenea, poate evolua o mastită actinobacilară, cu prezența de abcese moi, fluctuante, ce conțin puroi alb-gălbui. Această boală poate fi confundată cu limfadenita cazeoasă (*Corynebacterium pseudotuberculosis*), care afectează și sistemul limfonodal, iar nodulii au conținut cazeos și nu fluid-purulent. Tratamentul în ambele cazuri constă în aplicații locale

de soluții iodate și tratament general cu antibiotice (peniciline). Profilactic, se recomandă evitarea factorilor ce pot cauza leziuni la nivel bucal și cutanat. Se confirmă prin examen bacteriologic.

4.2 Diagnosticul de laborator

Pentru prevenirea și controlul infecțiilor cu SRLV, depistarea precoce este esențială, iar din acest punct de vedere un diagnostic de confirmare rapid devine o necesitate. Diagnosticul infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine* se poate realiza prin teste serologice indicate pentru evaluarea răspunsului imun umoral sau prin tehnici moleculare pentru identificarea acidului nucleic viral.

Până în prezent nu există un "standard de aur" pentru detectarea infecțiilor SRLV. Identificarea anticorpilor se realizează cu testul de imunodifuzie în gel de agaroză (AGID) și teste imunoenzimatic (ELISA). Testele precum radioimunoanaliza (RIA) și radioimunoprecipitarea (RIP), utilizând radiomarcaje, sunt de uz redus datorită disponibilității restrânse și a laboratoarelor adecvate, precum și a personalului. Aceste metode necesită timp, prezintă o reproductibilitate și repetabilitate relativ reduse și nu sunt potrivite pentru testarea la scară largă (automată).

Probele folosite pentru detectarea serologică pot fi reprezentate de: sânge, ser, plasmă, lapte, lacrimi și alte fluide ale corpului. Testele PCR pot fi de asemenea efectuate pe probe de ADN obținute din astfel de probe, precum și din secțiuni histologice. Virusurile pot fi izolate din fracțiunile celulare din sânge și din lapte sau din alte țesuturi. Dacă eșantioanele trebuie utilizate atât pentru detectarea anticorpilor, cât și pentru detectarea ADN-lui proviral, sângele tratat cu acid etilendiaminotetraacetic (EDTA) poate reprezenta o probă utilă; plasma poate fi utilizată pentru detectarea anticorpilor, iar leucocitele (WBC) pentru PCR. Laptele poate fi, de asemenea, o probă adecvată: zerul poate fi utilizat pentru metodele serologice - cu excepția AGID - și laptele pentru PCR. Probele pentru examenele histologice includ țesuturile afectate, cum ar fi pulmonul, creierul și glanda mamară.

a) Metode de detectare a anticorpilor

Pentru detectarea anticorpilor sunt folosite testul de imunodifuzie în gel de agaroză (AGID) și testele imunoenzimatic (ELISA).

Cel mai frecvent test utilizat pentru a depista artrita encefalita caprină este imunodifuzia în gel de agaroză (AGID), recomandat fiind și de către Organizația Mondială a Sănătății Animalelor (OIE, 2009). Cu toate acestea, acest lucru pare să subestimeze incidența infecțiilor, în special la animale cu conversie serică întârziată (Johnson ș.a., 1992) și poate împiedica diagnosticarea serologică precoce sau precisă la animale care ar putea fi o sursă eficientă de infecție. Linia de precipitare din testul AGID se datorează multiplelor interacțiuni dintre anticorpii prezenți în ser și epitopii virali, și poate fi văzută în 24 de ore, dar rezultatele finale trebuie citite la 48-72 ore pentru a fi siguri de stabilitatea lor (Abreu ș.a., 1998).

Simplitatea, specificitatea și sensibilitatea testului îl recomandă pentru utilizarea inițială în programele de control și de screening. Rezultatele negative false pot apărea într-un test AGID datorită seroconversiei întârziată, producției de anticorpi mai lentă sau ca urmare a faptului că anticorpii se află la un nivel nedetectabil în stadiul incipient al infecției.

Testul ELISA este o altă tehnică serologică recomandată de către OIE încă din 2008 pentru depistarea CAEV. Inițial testele ELISA au fost fabricate în laboratoare, dar acum mai multe kituri sunt disponibile în comerț în diferite formate, cum ar fi testele indirecte sau de blocare utilizând virusul întreg sau atenuat, proteine recombinante sau peptide sintetice ca sursă de antigene sau testul ELISA de competiție bazat pe utilizarea anticorpilor monoclonali antiviral. S-au descris teste ELISA indirecte bazate pe antigene recombinante sau peptide, incluzând proteine nucleare recombinante p55, *gag* (Schaller ș.a., 2000), p25, p16, p14 (Keen ș.a., 1995), proteine transmembranare gp46 sau proteine de înveliș gp135 purificate (Hanson ș.a., 1996).

Analiza serologică prin metoda ELISA poate utiliza alte probe decât serul, cum ar fi laptele sau zerul de lapte (Plaza ș.a., 2009). Utilizarea probelor de lapte este mai avantajoasă, deoarece colectarea este considerată neinvazivă. De asemenea această metodă reduce costurile examenelor și facilitează colectarea probelor. Serul, în general, necesită o diluție de la 1:10 la 1:100, o astfel de diluție măbind numărul de rezultate fals-negative, în special în cazul unui ser de probă slab pozitiv (Herrmann-Hoesing, 2010). De asemenea, ca și în cazul altor teste serologice pentru infecția CAEV, seroconversia întârziată sau intermitența prezenței anticorpilor pot determina rezultate fals negative și ambigue în testele ELISA (Rimstad ș.a., 1993; Hanson ș.a., 1996). Variabilitatea filogenetică a SRLV afectează rezultatele testului ELISA. S-a demonstrat că utilizarea antigenelor derivate din virusuri filogenetic diferite generează rezultate fals negative (Grego ș.a., 2002). Astfel, într-un set de diagnostic, combinația a cel puțin două peptide specifice subtipului este necesară pentru a acoperi o gamă largă a infecției (Cardinaux ș.a., 2013).

Rezultatele eronate în testele serologice sunt date de perioada relativ lungă între infecție și producția de anticorpi, așa numitul decalaj serologic și posibilitatea producerii de anticorpi cu intermitență. Alte rezultate fals negative pot fi datorate variației antigenice între tulpina(e) virale utilizate în test și tulpina(ile) sălbatice care circulă efectiv. Testele ELISA care utilizează tulpini locale dintr-o anumită zonă pot reduce riscul de diagnostic greșit (Grego ș.a., 2005).

Astfel, testul AGID pare să aibă o sensibilitate mai scăzută în comparație cu ELISA (Rodrigues ș.a., 2014). Testul AGID prezintă o sensibilitate limitată, dar o specificitate excelentă în comparație cu radioimunoanaliza (RIA) și ELISA. Pe lângă sensibilitatea limitată, principalul dezavantaj al testului AGID se referă la interpretarea sa subiectivă (Peterhans ș.a., 2004).

2) Metode de detectare a acidului nucleic

Izolarea virusului poate fi efectuată prin co-cultivarea leucocitelor din sânge, a țesutului sau a fluidului corporal al unui animal infectat cu celule permissive - de ex. fibroblaste derivate din membrana sinovială de capră - și verificarea ulterioară a efectului

citopatic și confirmarea prezenței lentivirusului prin tehnici de microscopie electronică, imunohistochimie și metode moleculare de detectare a acidului nucleic sau a activității revers transcriptazei. Aceste metode laborioase pot fi împiedicate de nepermisivitatea celulelor la anumite tulpini virale. Datorită caracteristicilor generale de creștere a acestor virusuri, metodele bazate pe culturi de țesut nu sunt adecvate pentru detectarea timpurie a infecției.

Tehnicile de imunohistochimie (IHC) care utilizează frotiuri, secțiuni histologice sau preparate citospin nu sunt folosite în scop de screening de rutină din cauza sensibilității limitate și a costurilor ridicate ale acestor metode.

Teoretic, CAEV poate fi prezent în probele clinice (sânge, organe, material seminal) în trei forme: și anume (Cheevers ș.a., 1981) ADN proviral încorporat (în macrofage), (Reina ș.a., 2006) ca virioni (particule complete de virus cu miezul lor ssARN și stratul de proteină eliberat de înmugurire din membrana plasmatică) și ca virus liber (eliberat prin liza celulară).

În practică, diferitele metode de diagnostic bazate pe PCR variază în funcție de țintele lor și includ: revers transcriptia PCR pentru detectarea ARN-lui viral (Leroux ș.a., 1997a), precum și double-nested PCR (Barlough ș.a., 1994), semi-nested PCR (Eltahir ș.a., 2006), nested PCR (Cruz ș.a., 2009), real-time PCR (Brajon ș.a., 2012) și TaqMan- qPCR (Li Y ș.a., 2013) pentru detectarea cADN-ului viral.

Tehnici de PCR, probe țintă, regiuni ale genomului viral utilizat pentru proiectarea PCR-lui și sensibilitatea metodei PCR privind detectarea infecției cu SRLVs sunt redată în tabelul 4.1.

Tabelul 4.1/ Table 4.1

Tehnici de PCR, probe și regiuni ale genomului viral utilizate pentru detectarea infecției cu SRLVs (după Ramirez, 2013)

PCR techniques, samples and genomic regions used to detect infections with SRLVs (after Ramirez, 2013)

Nr. crt.	Tipul PCR	Proba țintă	Primerii folosiți	Sensibilitatea testului	Referințe
1	2	3	4	5	6
1	PCR	Culturi celulare	<i>gag</i> și <i>pol</i>	<i>pol</i> -PCR este mai sensibil decât <i>gag</i> -PCR	Haase ș.a., 1990
2	PCR	Culturi celulare	LTR, <i>gag</i> și <i>env</i>	<i>LTR</i> -PCR este mai sensibil decât <i>gag</i> -PCR și <i>env</i> -PCR	Zanoni ș.a., 1992
3	PCR	PBMC	<i>gag</i>	<i>gag</i> -PCR este mai sensibil decât AGID	Johnson ș.a., 1992
4	PCR	Culturi celulare și PBMC	<i>gag</i>	<i>gag</i> -PCR este mai sensibil decât ELISA și WB	Wagter ș.a., 1998

1	2	3	4	5	6
5	PCR	PBMC, țesuturi și lapte	LTR	LTR-PCR are o sensibilitate de 98% comparativ cu AGID și ELISA	Ali Al Ahmad ș.a., 2008
6	PCR	Material seminal	<i>env</i> și <i>pol</i>	<i>env</i> -PCR este mai sensibil decât <i>pol</i> -PCR	Extramiana ș.a., 2002
7	snPCR	PBL	<i>pol</i> și LTR	LTR-PCR este mai sensibil decât <i>pol</i> -PCR	Leroux ș.a., 1997a
8	snPCR	PBMC	<i>gag</i>	<i>gag</i> -PCR este mai puțin sensibil decât AGID	Barlough ș.a., 1994
9	snPCR	Culturi celulare și PBMC	<i>pol</i>	Sensibilitate ridicată prin folosirea primerilor degenerați	Celer ș.a., 2000
10	nPCR	PBMC	<i>gag</i> și <i>pol</i>	<i>gag</i> -PCR este mai sensibil decât <i>pol</i> -PCR	Alvarez ș.a., 2006
11	nPCR	PBMC	<i>gag</i>	<i>gag</i> -PCR este mai sensibil decât AGID pentru animale seronegative	Eltahir ș.a., 2006
12	nPCR	PBL	<i>gag</i>	<i>gag</i> -PCR își mărește sensibilitatea atunci când este utilizat împreună cu hibridizarea	Karanikolaou ș.a., 2005
13	nPCR	PBL și sânge	<i>gag</i> și LTR	<i>gag</i> -PCR este mai sensibil decât LTR-PCR	Zanoni ș.a., 1996

Cele două dificultăți principale în elaborarea testelor PCR adecvate pentru CAEV sunt reprezentate de variația secvenței tulpinii (Shah ș.a., 2004) și de prezența scăzută a virusului, doar în 1×10^{-6} leucocite sunt infectate (Haase, 1986).

Datorită heterogenității genomului ARN viral, valoarea diagnosticului acestor analize depinde în mare măsură de proiectarea oligonucleotidelor și a probelor țintă folosite pentru detectarea CAEV.

De asemenea, toate metodele PCR necesită cicluri termice sofisticate, cu unele metode de identificare prin electroforeză în gel de agar sau prin secvențiere capilară (Ali Al Ahmad ș.a., 2005; Ali Al Ahmad ș.a., 2008; Kaba ș.a., 2009) limitând utilizarea diagnosticării prin metodele PCR în ferme, la fața locului.

O caracteristică importantă a metodelor bazate pe PCR este posibilitatea de diagnosticare precoce a infecțiilor cu CAEV prin detectarea secvențelor provirale atunci când producția de anticorpi este absentă, dacă anticorpul este în titru scăzut sau când anticorpul maternal împiedică metodele de detectare serologică.

Efectuarea unui inventar al tulpinilor circulante locale prin intermediul metodelor epidemiologice moleculare poate crea o bază sigură pentru detectarea sensibilă și fiabilă a secvențelor nucleotidice virale sau provirale prin PCR (Grego ș.a., 2007).

4.3 Supraveghere și control

Tratamentul medicamentos și vaccinarea sunt inefficiente fapt pentru care identificarea indivizilor infectați prin teste de laborator precum și managementul strict al sănătății la nivel de fermă și de individ rămân principalii pași pentru reducerea prevalenței acestei boli, fiind și singurele metode eficiente din programul de control.

În prezent nu există vaccinuri eficiente disponibile împotriva SRLVs. Au fost testate variante vaccinale cu virusul întreg sau virusul atenuat, vaccinuri subunitare în diferite forme (proteine, plasmide, virusuri recombinante) cu o varietate de co-stimulatori, dar încă nu au fost găsite antigenele de protecție specifice (Tiley ș.a., 1990; Cheevers ș.a., 1994; Harmache ș.a., 1998; Cheevers ș.a., 2000; Beyer ș.a., 2001; Cheevers ș.a., 2003; Trujillo ș.a., 2004; Gonzalez ș.a., 2005; Petursson ș.a., 2005; Torsteinsdottir ș.a., 2007; Reina ș.a., 2008; de Andres ș.a., 2009; Niesalla ș.a., 2009). Până în prezent s-au obținut doar două vaccinuri pentru alte lentivirusuri, un vaccin atenuat AIE folosit în China (Lin ș.a., 2011) și FIV folosit în SUA (Uhl ș.a., 2002).

Obținerea unui vaccin eficient pentru HIV-1 și pentru alte lentivirusuri este dificilă, întrucât cercetările efectuate și rezultatele experimentale au demonstrat câteva din mecanismele care stau la baza eșecurilor de protecție prin vaccinare, cum ar fi:

(1) HIV străbate mucoasa, iar inducerea și menținerea unui nivel ridicat de anticorpi specifici și limfocite T la nivelul mucoasei este dificilă, fiind necesară repetarea vaccinării pentru menținerea unui nivel eficient de acțiune;

(2) existența de restricții și latența infecției în celulele țintă îngreunează recunoașterea de către sistemul imunitar a celulelor infectate;

(3) structura *env*, prin schimbarea modului de a glicozila și a conformației sale atunci când este implicată în legarea și fuziunea la suprafața celulei cauzează dificultăți în inducerea de anticorpi neutralizanți eficienți;

(4) creșterea titrului de anticorpii prezenți după vaccinare poate scădea pragul infecției și intensifica modificările patologice;

(5) capacitatea de a suferi mutații și recombinări, rezultând multiple variante care circulă în cadrul populației gazdă fac dificilă asigurarea imunității heterologice împotriva tuturor tulpinilor;

(6) prezența răspunsului imun poate determina mutații și selecția de variante noi mai patogene;

(7) lentivirusurile infectează celulele sistemul imunitar, iar activarea sistemului imunitar crește rata de replicare a virusului. În absența imunității sterilizante, prezența unui răspuns imun pre-existent poate scădea pragul pentru infectarea unei gazde vaccinate, precum și accelerarea dezvoltării patologiei.

Acest ultim mecanism a fost prezentat în cazul SRLVs, unde, ca urmare a vaccinării cu virus întreg și cu proteine virale individuale a fost observată creșterea ușurinței de izolare virală și o patologie mai evidentă la animalele vaccinate (Nathanson ș.a., 1981; McGuire ș.a., 1986; Russo ș.a., 1993; Nenci ș.a., 2007) și, în mod similar, după vaccinarea împotriva FIV, o infecție intensificată postvaccinal (Richardson ș.a., 1997).

Deoarece nu există tratament eficient sau vaccin pentru CAE, trebuie adoptate măsuri profilactice pentru a reduce sau elimina pierderile cauzate de boală, cum ar fi: producția scăzută de lapte, sacrificarea prematură și pierderea potențialului genetic al animalelor afectate. Măsurile se bazează pe identificarea precisă a animalelor infectate prin teste serologice adecvate, segregarea și/sau sacrificarea celor seropozitive și controlul colostrului și al aprovizionării cu lapte a ieșilor sugari (Phelps și Smith, 1993; Greenwood, 1995a; Callado ș.a., 2001; Modolo ș.a., 2003).

În cadrul strategiilor și programelor de prevenire și de control a infecției cu CAE trebuie avută în vedere lipsa tratamentului și vaccinării, costurile ridicate cu măsurile specifice de control, precum și persistența infecției.

Un factor de risc important este considerat comerțul cu animale, deci, prin urmare, controlul mișcării animalelor este esențial în prevenirea diseminării infecției între turme. Toate animalele care urmează a fi cumpărate, date la schimb sau să participe la expoziții sau alte evenimente trebuie să fie însoțite de certificate de sănătate. Totodată, animalele trebuie ținute în carantină și retestate serologic anterior cu 60 de zile (Rowe ș.a., 1992b; Guimaraes ș.a., 2009; Gouveia, 2012; Sardi ș.a., 2012).

În cazul cumpărării, schimbului sau împrumutului de animale este indicată testarea acestora prin teste ELISA sau DB pentru a preveni achiziția de animale fals negative. Pentru confirmarea diagnosticului în perioada de carantină vor fi efectuate testări mai specifice prin metoda AGID (Gouveia, 2012).

Animalele neinfectate trebuie protejate împotriva infecțiilor prin măsuri sanitare și de reglementare.

Există în principiu două opțiuni pentru populațiile infectate:

- a) să se adapteze practicilor de gestionare a animalelor pentru a reduce cât mai mult posibil pierderile economice; sau
- b) să pună în aplicare programe de control bazate pe identificarea și eliminarea animalelor infectate.

Îndepărtarea în timp util a caprinelor infectate din efective, combinată cu gestionarea strictă a turmelor, este o metodă dovedită pentru obținerea populațiilor indemne de infecție (Houwens ș.a., 1984).

În efectivele intens infectate, animalele libere de infecție pot fi obținute prin îndepărtarea imediată a nou-născuților din mediul matern, urmată de hrănirea artificială (Houwens ș.a., 1983). În general, programele de control SRLVs vizează asigurarea unui nivel înalt de certitudine cu privire la libertatea de SRLVs a turmei.

Participarea la majoritatea programelor de control conduce, de obicei, la obținerea statutului de turmă liberă, care permite schimbul de animale fără răspândirea virusului.

Astfel de efective certificate beneficiază în mod obișnuit de absența pierderilor economice asociate SRLV și de valoarea de piață crescută a animalelor de reproducție vândute.

Cu toate acestea, mulți fermieri consideră că beneficiile sunt mai mici decât costurile și că limitările și obligațiile programului sunt semnificative. Islanda este singura țară europeană care a eradicat definitiv boala printr-o campanie intensivă de eliminare și repopulare prin introducerea de animale neinfectate (Palsson, 1976).

Programele de control (tabelul 4.2) se desfășoară acum în multe țări europene, inclusiv în Țările de Jos - Finlanda, Danemarca, Franța, Norvegia, Suedia și Elveția, precum și în SUA, Canada și Japonia.

Tabelul 4.2/Table 4.2

Strategii de control și combatere a SRLVs în fermele de caprine (după Minguijon, 2015)
SRLVs control and combat strategies in goat farms (after Minguijon, 2015)

Nr crt	Strategia de control folosită	Tipul de transmitere prevenit	Dezavantaje	Beneficii	Țări unde sunt utilizate	Referințe
1	2	3	4	5	6	7
1	Sacrificare și înlocuire cu animale	Toate	Costuri economice mari Neviabilă pentru prevalență ridicată Pierderi de material genetic valoros Dificilă identificarea și înlocuirea animalelor seronegative Necesitatea unui sistem de identificare a animalelor sănătoase	Util pentru turme mici și o seroprevalență ridicată Control eficient și rapid al diseminării infecției	Belgia Finlanda Islanda Malta Olanda Polonia Elveția	de Boer ș.a., 1978; Palsson 1978; Palsson 1983; Houwers ș.a., 1984; Houwers ș.a., 1987; Houwers 1990; Lujan ș.a., 1993; Petursson 1994; Sihvonen ș.a., 2000.
2	Separare seropozitiv de seronegativ în două turme diferite	Orizontală	Managment laborios (muncă dublă pentru fermier) Amenajări suplimentare Separarea fizică la minim 2 metri între turme	Util pentru o seroprevalență medie / ridicată; Control rapid; Nu este nevoie de o sursă de animale din exterior; Sunt păstrate animalele genetic valoroase.	Spania SUA	de Boer ș.a., 1978; Schipper ș.a., 1985; Houwers-ș.a., 1989; Perez ș.a., 2013

1	2	3	4	5	6	7
3	Hrănirea artificială a) lapte / colostru de la mame seonegative b) lapte / colostru tratate termic c) înlocuitori de lapte / colostru d) lapte / colostru de vacă	Verticală și orizontală	Laborioasă, consumatoare de timp, costisitoare; Separarea puilor imediat după fătare; Problemele asociate hrănirii artificiale; Lipsa imunității pasive; Beneficii reduse pentru turme cu seroprevalență medie	Utilă când seroprevalența este în creștere; Nu este necesară sacrificarea tuturor animalelor, nu este afectată mărimea turmei; Se păstrază materialul genetic valoros	Canada Japonia Spania	de Boer și Houwers 1979; Houwers ș.a., 1983; Bernadina și Franken 1985; Cutlip ș.a., 1986; Williams-Fulton și Simard 1989; Rowe ș.a., 1991; Berriatua ș.a., 2002; Alvarez ș.a., 2005; Juste ș.a., 2009; Leitner ș.a., 2010; Konishi ș.a., 2011
4	Sacrificarea selectivă a animalelor infectate și/sau a descendenților acestora a) obligatorie; b) voluntară	Verticală și orizontală	Pierderea de material genetic valoros; Eficacitate redusă la nivel de turmă cu creșterea seroprevalenței Necesar un diagnostic precis prin teste de laborator datorită evoluției subclinice; a) prețul la sacrificare poate scădea mult; b) participare limitată a crescătorilor.	Utile pentru seroprevalență redusă până la moderată; O rapidă reducere a seroprevalenței în cazul aplicării testărilor din 6 în 6 luni; Reducerea progresivă a seroprevalenței fără a crește rata de sacrificare; Eliminarea descendenților poate accelera controlul infecțiilor	Danemarca Finlanda Franța Japonia Irlanda Italia Marea Britanie Norvegia Olanda SUA	de Boer ș.a. 1978; Houwers ș.a., 1984; Guyen 1985; Hoff-Jørgensen 1985; Houwers ș.a., 1987; Cutlip ș.a., 1986; Williams-Fulton și Simard 1989; Houwers 1990; Greenwood ș.a., 1995; Remond ș.a., 1985;

1	2	3	4	5	6	7
				moștenite, a transmisiei verticale.		Schipper ș.a., 1985; Sihvonen ș.a., 2000; Berriatua ș.a., 2002; Konishi ș.a., 2011; Gufler 2013
5	Înlocuirea cu descendenți seronegativi: a) achiziția periodică de animale libere de SRLVs, b) selecția de descendenți de la mame seronegative din turmă, c) înlocuirea cu descendenți ai femelelor tinere seropozitive.	Verticală și orizontală	a), b) dificil de găsit înlocuiri adecvate; a), c) cerință pentru un sistem de acreditare a turmelor.	Perturbare minimă a producției; b) posibil indirectă selecție genetică de linii rezistente; c) femelele tinere gestante în stadii incipiente ale infecției transmit descendenților un nivel mai scăzut al infecției decât animalele cu un stadiu de lungă durată a infecției.	Finlanda Olanda Spania	Sihvonen 1980; Houwers 1990; Ferrer 1996; Berriatua ș.a., 2002
6	Program de reproducere axat pe rezistența la SRLVs (folosirea markerilor)	Verticală și orizontală	Puține informații despre markerii de rezistență; Nu s-a aplicat niciodată clinic; Costuri crescute cu înșămânțarea artificială și genotiparea Posibile consecințe; nedorite	Eliminarea descendenților poate accelera controlul și acționează asupra sensibilității moștenite și a transmisiei verticale;	Nu se aplică	DeMartini ș.a., 1991; Blacklaws ș.a., 2004; Larruskain și Jugo 2013;

1	2	3	4	5	6	7
6			;Succesul programului poate fi influențat de fondul genetic și tulpina virală care poate suferi mutații /recombinații și adaptare	Utilizarea ca metodă complementară a celorlate metode și îmbunătățirea eficacității globale a strategiei de control.		Sider ș.a., 2013; White și Knowles 2013

Toate metodele descrise mai sus necesită identificarea adecvată a tuturor animalelor dintr-o fermă, cunoașterea seroprevalenței efectivului și utilizarea de tehnici care permit un diagnostic precoce. Testarea periodică trebuie efectuată la intervale anuale (cel puțin) sau, mai bine, la șase luni.

PARTEA A II-A CERCETĂRI PROPRII

SECOND PART – OWN RESEARCH

CAPITOLUL 5. CADRUL ORGANIZATORIC ȘI INSTITUȚIONAL ÎN CARE S-AU DESFĂȘURAT CERCETĂRILE

CHAPTER 5. THE ORGANIZATIONAL AND INSTITUTIONAL FRAMEWORK IN WICH THE RESEARCH WAS CARRIED OUT

5.1 Cadrul natural

Cea mai mare parte a cunoștințelor cu privire la patologia infecțioasă caprină este obținută din analogia cu cea ovină și bovină, numită generic „patologia rumegătoarelor”. Comparativ cu ovinele sau bovinele, caprinele prezintă particularități anatomice și de patogeneză, fapt pentru care entitățile răspunzătoare acționează prin mecanisme specifice determinând răspunsuri diferite.

Aceasta, precum și faptul că tot mai mulți fermieri preferă creșterea caprelor din rase specializate pentru producția de lapte a determinat derularea acestor cercetări și studiul patologiei artritei encefalitei caprine, realizate în regiunea de est a României, respectiv în județele Botoșani, Iași și Vaslui, figura 5.1 ilustrând cadrul natural în care s-au desfășurat cercetările.



Figura 5.1 Harta administrativă a României
Figure 5.1 Administrativ map of Romania
(<http://historymaps.ro>)

Din punct de vedere geografic județul Botoșani este situat în partea de nord-est a României și are ca vecini: la nord regiunea Cernăuți din Ucraina, la est raioanele Briceni, Edineț, Rîșcani și Glodeni din Republica Moldova, la sud județul Iași și la vest județul Suceava. Relieful este predominant deluros, parte din zona sud-estică a Podișului Moldovei, și cuprinde Dealurile Siretului și partea deluroasă a Câmpiei Jijiei dispuse în partea de nord a județului, Câmpia Prutului, spre est și spre vest terasele înalte de pe malul stâng al râului Siret. Bazinul hidrografic este format din râurile Prut la est și Siret la vest, Jijia și Bașeu în centru, cu afluenți ce formează lunci întinse, determinând crearea artificială a peste 150 de

lacuri, cu mari suprafețe a luciului de apă, precum, Drăcșani de 440 ha (pe valea Sitnei) și Negreni de 304 ha (pe valea Bașeului).

Clima este temperat-continentală, cu temperatura medie anuală de 8-9⁰C, mai redusă decât în restul țării, puternic influențată de masele de aer rece din estul continentului, cu precipitații variabile, cu ierni sărace în zăpadă, cu veri secetoase, cu regim scăzut de umezeală, cu vânturi predominante din nord - vest și sud – vest.

Județul Iași este situat în zona estică a României și central estică a Moldovei și se învecinează la est cu raionul Ungheni din Republica Moldova, la sud cu județul Vaslui, la vest județul Neamț, nord-vest cu județul Suceava și cu județul Botoșani la nord. Județul Iași se află plasat pe o câmpie între râurile Siret și Prut, partea de nord fiind ocupată de zone deluroase, cu dealuri și platouri înalte cu altitudini de peste 400 de metri, parte din Podișului Central Moldovenesc, iar partea de sud este ocupată de Câmpia Moldovei. Relieful este format din zone cu altitudini înalte de peste 500 de metri în partea vestică, o parte a Podișului Fălticeniilor și Dealul Mare, traversate de Culoarul Siretului.

Clima este temperat-continentală, cu temperaturi extreme, ce pot ajunge vara la 40⁰C, iar în sezonul rece sub 0⁰C, cu precipitații reduse și vânt predominat din vest.

Județul Vaslui este situat în partea de est a țării, în regiunea estică a Moldovei și se învecinează cu: județul Iași în partea de nord, județul Neamț la nord-vest, județul Galați la sud-vest, Republica Moldova la est și județul Bacău la vest. Județul Vaslui se află plasat pe râul Bârlad, ocupă partea de sud și sud-est a Podișului Central Moldovenesc, iar în partea centrală se întinde pe Colinele Tutovei și Dealurile Fălciului, diviziuni ale Podișului Bârladului, parte a Podișului Moldovei. Relieful este format din dealuri și văi largi, orientate majoritar de la nord spre sud. Dealurile au o altitudine medie de 250-350 metri, cu altitudinea maximă în partea nordică, respectiv, 485 de metri, Dealul Mângăreii în nord-vest și 425 de metri Dealul Cetățuiei în partea de nord-est. Altitudinea minimă, de 10 metri, este în lunca Prutului.

Clima este temperat-continentală cu diferențe mari de temperaturi, cu veri călduroase și secetoase și ierni geroase, cu temperatura medie anuală cuprinsă între 8-9,8⁰C și precipitații reduse.

Din punct de vedere al tipurilor administrative de diviziune regională din România, cele trei județe, Botoșani, Iași și Vaslui fac parte din Macroregiunea 2, Regiunea de dezvoltare Nord-Est alcătuită din județele: Bacău, Botoșani, Iași, Neamț, Suceava și Vaslui.

Din punct de vedere economic cele 3 județe au o industrie dezvoltată în zona urbană, iar în zonele rurale principala îndeletnicire este agricultura și creșterea animalelor, favorizate de relief.

5.2 Cadrul organizatoric și instituțional

Cercetările pentru elaborarea tezei de doctorat au fost realizate în cadrul Facultății de Medicină Veterinară din cadrul Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad”, Iași.

Facultatea de Medicină Veterinară din Iași a fost înființată în 1961. Activitatea în cadrul facultății este structurată pe departamente de preclinici, clinici și de sănătate publică

care împreună colaborează în vederea formării de specialiști. Facultatea oferă studenților diferite cursuri pentru licență, universitare și post-universitare. În afară de predare, facultatea este, de asemenea, axată pe cercetare științifică la nivel de doctorat.

Cercetările proprii s-au desfășurat în cadrul:

a. **Pavilionul de cercetare Microbiologie – Boli infecțioase și Medicină Preventivă** din cadrul Departamentului de Sănătate Publică al Facultății de Medicină Veterinară Iași; acesta are următoarea structură și dotare:

Laborator de Biologie Moleculară: hotă PCR; frigider și congelator (-20°C, -80°C); sistem de electroforeză orizontală; aparat vizualizare geluri Gell doc; Thermal Cycler Bio-Rad; centrifugă pentru tuburi de 15ml, 50ml x 4000rpm; centrifugă pentru tuburi de 15ml, 50ml x 13000rpm; cuantificator ADN/ARN; vortex; balanță de laborator; cuptor microunde; aparat pentru apă ultrapură.

Laborator de Serologie: hotă tip II; frigider și congelator; microscop ranversat cu imunofluorescență; microscop optic; incubator de răcire; Bain-marie; termocyclor; centrifugă pentru tuburi de 1,5ml x 1300rpm; centrifugă pentru tuburi de 15ml, 50ml x 4000rpm; centrifugă pentru tuburi de 15ml, 50ml x 13000rpm; agitator magnetic; vortex; balanță de laborator; bidistilator.

Laborator de Bacteriologie: incubator Binder; hotă chimică; autoclav orizontal cu capacitate de 90 litri; frigider; 2 hote flux laminar tip II; aparat de preparat medii de cultură; etuvă.

Laborator de Anatomie Patologică, unde au fost efectuate examenele morfopatologice și histopatologice.

b. **Pavilionul Clinicii de Medicală – Imagistică Veterinară** în cadrul căreia au fost efectuate examenele radiologice și ecografice.

c. **Circumscripții Sanitar Veterinare (CSV)** de pe teritoriile județelor Botoșani, Iași și Vaslui unde au fost efectuate investigații epidemiologice și s-au recoltat probe biologice reprezentate de: sânge, secreții nazale, oculare, genitale, avortoni, organe cu leziuni.

CSV-urile de pe teritoriile celor 3 județe coordonează activitățile sanitar veterinar, având în vedere bunăstarea animalelor și supravegherea epidemiologică a bolilor.

d. **Ferme de creștere a caprinelor specializate pentru producția de lapte** de pe teritoriile județelor Botoșani, Iași și Vaslui unde au fost efectuate investigații epidemiologice și s-au recoltat probe biologice reprezentate de: sânge, secreții nazale, oculare, genitale, avortoni, organe cu leziuni.

Modul de creștere al caprinelor din ferme este tehnologizat comparativ cu obiceiurile cu caracter arhaic și pastoral din gospodăriile populației cu scopul, pe plan economic, de a obține o gestionare rațională și eficientă a fermei ținând cont de bunăstarea și deci, de performanțele animalelor.

În cadrul fermei sistemul de întreținere este intensiv, liber în adăposturi compartimentate, special concepute pentru stabulația caprelor, cu loturi formate din 50-250 caprine/lot, pe așternut vegetal schimbat o dată pe lună.

Fermele de creștere a caprinelor de pe teritoriul celor 3 județe sunt organizate și

structurate după un model de exploatare, adaptat nevoilor și cerințelor din sectorul lapte, care respectă împărțirea fermei în mai multe zone funcționale.

Amplasarea fermei și construcțiile anexe din incintă îndeplinesc condițiile optime de creștere intensivă prin respectarea următoarelor cerințe legate de condițiile de adăpostire: ferma este situată în afara localității, suprafața este suficient de mare astfel încât să asigure amplasarea adăposturilor și a anexelor, este asigurată sursa de apă curentă necesară activității zilnice, este racordată la sursa de curent electric, este racordată la rețeaua de acces și la căile de comunicație, există posibilitatea aplicării unor măsuri sanitar-veterinare.

Adăpostul este de formă dreptunghiulară (fig. 5.2), cu suprafețe construite utile ce variază în funcție de numărul de caprine cazate, necesarul pentru rase de lapte fiind de $2\text{m}^2/\text{animal}$.



Figura 5.2 Model de adăposturi și construcțiile anexe din cadrul unei ferme de creștere a caprinelor specializate pentru lapte (*original*)

Figure 5.2 Shelter model and associated buildings at a dairy goat breeding farm (*original*)

Compartimentarea adăpostului cuprinde: saivan pentru capre adulte; saivan pentru tineret caprin; maternitate cu boxe pentru femelele gestante, boxe de fătare de $1,5\text{ m}^2$, boxe pentru ieduți de 1 m^2 ; boxe pentru țapii de reproducție; pe ambele părți ale adăpostului sunt dispuse boxe pentru loturile de capre, în funcție de rasă, stare fiziologică și producția de lapte.

Adăpostul este proiectat cu alee centrală de furajare (fig. 5.3), constituită dintr-o treaptă cu pardoseala în pantă. Distribuirea furajului se realizează cu ajutorul unei remorci tehnologice sau cu roaba, furajul grosier administrat este (lucernă, fân, paie, siloz) constituit în amestec de furaj grosier unic. Animalele mai primesc furaj în iesle metalice cu furajare pe ambele părți, cu sistem de recuperare a risipei de smulgere a furajelor grosiere.



Figura 5.3 Adăpost de formă dreptunghiulară cu alee centrală de furajare (*original*)
Figure 5.3 Rectangular shelter with central feed (*original*)

Adăpostul este dotat cu: instalație de apă potabilă, poziționată până la nivelul pieptului animalului, la o înălțime de aproximativ 0,7 m, instalații de iluminat artificial și instalații de ventilare.

Pardoseala adăpostului este ridicată cu aproximativ 15-20 cm deasupra solului și este izolată prin eliminarea stratului vegetal, nivelarea și tasarea terenului, peste care sunt așezate straturi subțiri din materiale izolante (nisip, pietriș, balast) care se acoperă cu paie sau talaj. Așternutul este reîmprospătat periodic (1 dată/lună), pentru a fi păstrat uscat, cald, elastic și nealunecos.

Pereții laterali ai adăpostului sunt concepuți din panouri tip sandwich, din poliuretan, cu o înălțime de 1,5 m, iar înălțimea gardurilor din interiorul adăpostului este de 1,2 m.

Acoperișul este conceput din șarpanta din lemn, folie anticondens, termoizolație și învelitoare din plăci ondulate de azbociment; streășina este prevăzută cu jgheaburi și burlane de scurgere.

Ventilarea adăpostului este realizată cu câte 2 ventilatoare la capătul halelor, comandate de un termostat reglat la temperatură diferită, în funcție de sezon; de asemenea, atât ventilarea, cât și iluminatul, se realizează și pe cale naturală, prin intermediul ferestrelor construite pe toată lungimea celor două laturi ale adăpostului.

Ușile adăpostului sunt largi și înalte, pentru a permite aprovizionarea cu furaje, evacuarea dejecțiilor, precum și accesul animalelor în padoc; din adăpost, animalele au uși de acces către padocurile din aer liber.

Sala de muls (fig. 5.4) este amplasată în apropierea adăpostului. Numărul locurilor de muls este în funcție de numărul total al caprinelor în producție, de mărimea loturilor și pot fi cu o capacitate de 8, 12 sau de 36 de locuri. Sala de muls este dotată cu instalație de muls automată, cu monitorizarea individuală a producției și poate fi în formă de pieptene, rotativă, în carusel. La sala de muls, animalele primesc supliment cerealier (grâu și porumb) de aproximativ de 500g.



Figura 5.4 Sala de muls dotată cu instalație de muls automată liniară (*original*)
Figure 5.4 Milking parlor equipped with a linear automatic milking system (*original*)

Iezii nou-născuți sunt alimentați cu colostru (cât mai repede posibil, nu mai tarziu de 6 ore după naștere), natural și artificial - la găleată sau biberone cu tetine de cauciuc, până la 2 luni.

Rasele de capre pentru lapte crescute în sistem intensiv sunt:

- Saanen, producție medie zilnică de lapte de 4-4,5 litri;
- Alpină franceză, producție medie zilnică de lapte de 3,5-4 litri;
- Murciano Granadina (Murciana), producție medie zilnică de lapte de 3 litri;
- Carpatină , producție medie zilnică de lapte de 2,5 litri;
- Alba de Banat, producție medie zilnică de lapte de 3,5 litri.

Condițiile naturale de relief și de climă favorabile din regiunea geografică a celor trei județe, costurile reduse de întreținere, producțiile mari de lapte, precum și prolificitatea și precocitatea ridicate, au condus la acordarea unui interes sporit creșterii caprinelor din rasele perfecționate, concretizat prin mărirea importului și a numărului de ferme destinate creșterii caprinelor specializate pentru producția de lapte.

CAPITOLUL 6. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII

CHAPTER 6. PURPOSE AND OBJECTIVES

Faptul că tot mai mulți fermieri preferă creșterea caprelor din rase specializate pentru producția de lapte, că cea mai mare parte a cunoștințelor noastre sunt obținute din analogii cu patologii bovine sau ovine, literatura de specialitate menționând date științifice cu privire la evoluția efectivelor, optimizarea tehnologiilor de exploatare a caprinelor în scopul rentabilizării exploatațiilor, îmbunătățirea producției de lapte, evaluarea parametrilor fizici și chimici pentru lapte și carne, evaluarea funcției de reproducție la caprine, a determinat necesitatea derulării prezentelor cercetări și a studiului patologiei artritei encefalitei caprine.

Creșterea caprinelor, în special a raselor specializate pentru producția de lapte se confruntă la nivel mondial cu o importantă patologie infecțioasă virală responsabilă de apariția unor afecțiuni care determină importante pierderi economice crescătorilor (ex. scăderea producției de lapte, pierderea în greutate, rămânerea în urmă cu creșterea, scăderea imunității și a predispoziției la apariția infecțiilor secundare și a parazitismului gastrointestinal, scăderea perioadei de exploatare). Una din aceste afecțiuni este infecția cu *lentivirusul rumegătoarelor mici*, cu *virusul artritei encefalitei caprine* (CAEV).

Astfel, lentivirusurile prezintă proprietatea biologică cheie de a suferi mutații și recombinări, de a se integra în genomul celulei gazdă unde poate rămâne neexprimat pentru lungi perioade de timp, de a infecta celulele din linia monocite-macrofage neutralizând astfel unul din mecanismele de apărare specifice ale gazdei. Aceste caracteristici precum și mecanismul particular al imunopatogenezei contribuie la abilitatea virusului de a evita un răspuns imun adecvat al gazdei. Latența, persistența și eliminarea virusului pe tot parcursul vieții gazdei sunt factori care fac greu de controlat infecția cu virusul CAE și sunt responsabili pentru evoluția cronică, dureroasă, debilitantă și asimptomatică la animalele expuse infecției.

Scopul lucrării, intitulată *„Cercetări privind artrita encefalita caprină în estul României”* a fost acela de a identifica prin metode diferite de diagnostic prezența infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine* precum și conceperea unui plan strategic de control și supraveghere cât mai sustenabil.

Primul obiectiv al temei de cercetare a fost acela de a realiza un **studiu epidemiologic privind patologia infecțioasă la caprinele din estul României**. Acest studiu s-a desfășurat pe durata a patru ani, octombrie 2014 – iunie 2018 la efectivele de caprine de pe teritoriul județelor Botoșani, Iași și Vaslui.

Un al doilea obiectiv al cercetărilor întreprinse a fost reprezentat de **studiul seroepidemiologic privind infecția cu virusul artritei encefalitei caprine la caprinele din estul României**. Studiul s-a desfășurat pe durata a patru ani, octombrie 2014 – iunie 2018.

Al treilea obiectiv a urmărit să ilustreze o imagine de ansamblu a **investigațiilor clinice și anatomopatologice privind infecțiile cu virusul artritei encefalitei caprine (CAEV) la caprinele din estul României**.

Un alt obiectiv al cercetărilor a fost reprezentat de **confirmarea infecției cu virusul artritei encefalitei caprine (CAEV) la caprinele din estul României și caracterizarea tulpinilor virale identificate în focarele de artrită encefalită caprină**. Datorită rezultatelor fals negative care pot apare într-un test AGID, ca urmare a seroconversiei întârziate, a sintezei de anticorpi mai lentă sau a faptului că anticorpii se află la un nivel nedetectabil în stadiul incipient al infecției, s-a impus detectarea acidului nucleic prin metode PCR, și caracterizarea tulpinilor virale identificate.

Ultimul obiectiv al cercetării a fost acela de **concepere a unui proiect de supraveghere și control a infecției cu virusul artritei encefalitei caprine** pentru obținerea statutului de efectiv liber de CAEV, pentru a limita cât mai mult posibil incidența bolii în efectivele de caprine.

CAPITOLUL 7. OBSERVAȚII EPIDEMIOLOGICE PRIVIND PATOLOGIA INFECȚIOASĂ A CAPRINELOR ÎN ESTUL ROMÂNIEI

CHAPTER 7. EPIDEMIOLOGICAL OBSERVATION REGARDING CAPRINE INFECTIOUS PATHOLOGY IN THE EAST OF ROMANIA

Capra reprezintă o specie care a reușit să se impună în atenția crescătorilor, motiv pentru care efectivul de caprine din țara noastră este în continuă creștere, astfel dacă în anul 2007 au fost raportate 865070 animale, în decembrie 2017 erau 1503270.

În țara noastră, sunt majoritare două rase, rasa Carpatină și Alba de Banat care reprezentau 70% din efectivul național de animale, în prezent procentul fiind în scădere datorită importului de animale din rase specializate pentru producția de lapte Saanen, Alpina Franceză, Anglo Nubian, Murcina Granadină, Nobila Germană, Toggenburg.

7.1 Scopul cercetărilor

Un prim obiectiv al cercetărilor a fost reprezentat de o investigație epidemiologică retrospectivă ce a cuprins perioada 2007-2017 în ceea ce privește dinamica efectivelor de caprine din România.

Cercetările ulterioare au avut ca scop evidențierea prezenței patologiei infecțioase la populația de caprine în regiunea de est a României, din perioada octombrie 2014 – iunie 2018, corelarea patologiei cu rasa, categoria de vârstă, tipul de exploatație, factorii ce au contribuit la apariția afecțiunilor, precum și măsurile de prevenire și de combatere.

7.2 Material și metodă

Investigațiile s-au efectuat în perioada octombrie 2014 – iunie 2018, examinându-se un număr de 8628 de caprine din diferite rase și categorii de vârstă, precum și sisteme de exploatare din județele Botoșani, Iași și Vaslui. În cadrul anchetei epidemiologice s-au luat în considerare relatările episoadelor din anii anteriori, s-au analizat la nivel de crescătorie condițiile de întreținere, tipul de stabulație, tipul producției, iar la nivel de individ s-au avut în vedere specia, rasa, sexul, vârsta, starea de sănătate.

În cadrul anchetei descriptive observaționale s-a ținut cont de următorii factori de risc: sistemul de creștere, sistemul de producție, mărimea efectivului, prezența ovinelor, disponibilitatea serviciilor veterinare, mișcarea animalelor, împerecherea naturală, înseminarea artificială, istoric avorturi, infecții genitale, infertilitate, fătări premature și mortalitate la iezi, pășunat pe pășuni comunale.

Au fost examinate clinic 8628 de animale. Efectivele de caprine luate în studiu provin atât din gospodăriile populației cât și din ferme; animalele sunt crescute atât în stabulație liberă cât și în stabulație permanentă; sunt de rase autohtone: Carpatină, Albă de

Banat și de rase de import, specializate în producția pentru lapte precum Saanen, Alpină franceză, Murciană sau din metiși ai acestora.

În vederea confirmării diagnosticului de boală infecțioasă în perioada octombrie 2014 – iunie 2018 s-au recoltat 1236 de probe ce proveneau de la caprine din gospodăriile ale populației și ferme din județele Botoșani, Iași și Vaslui, de la animale din rasele Carpatină, Albă de Banat, Saanen, Alpină franceză, Murciană și metiși ai acestora, tineret și adulte, femele și masculi, cu și fără semne clinice. Depozitarea probelor prelevate folosite pentru testele ulterioare este în concordanță cu standardele stabilite astfel: probele necesare în vederea efectuării testărilor serologice sunt stocate și conservate la o temperatură de -20°C, materialele patologice folosite pentru detectarea acidului nucleic sunt stocate și conservate la temperatura de -80 °C, piesele formolate sunt păstrate la temperatura camerei, 20-22 °C. Tabelul 7.1 ilustrează tipurile de probe prelevate și repartizarea acestora pe județe.

Tabelul 7.1/Table 7.1

Probe recoltate în perioada 2014 - 2018
Samples harvested between 2014 and 2018

Județ	Probe sânge		Tampoane nazale	Probe din țesuturi / organe		
	Pe EDTA	Fără EDTA		congelate	formolate	etalate lamă
Botoșani	0	197	18	0	0	0
Iași	0	146	33	5	0	4
Vaslui	200	419	89	55	35	35
Total	200	762	140	60	35	39
Total 1236 din care:	962		140	134		

Datele obținute au fost apreciate prin calcularea principalilor indicatori epidemiologici și transpuse în tabele exprimate ca informație finală în diagrame și grafice, realizând o evaluare a situației epidemiologice a patologiei infecțioase a caprinelor din estul României, din perioada octombrie 2014 – iunie 2018.

7.3 Rezultate și discuții

Evoluția efectivelor de animale este publicată de Institutul Național de Statistică în comunicate de presă anuale și cuprinde date statistice privind efectivele de animale existente în România – cercetarea statistică (EPA) referitoare la efectivele de animale existente la 1 decembrie și producția animală, în conformitate cu Regulamentul Parlamentului European și al Consiliului nr. 1165/2008/CE privind statisticile referitoare la efectivele de animale. Comunicatul referitor anului 2017 cuprinde cercetarea statistică a tuturor variabilelor privind efectivele de animale pe specii, grupe de vârstă și categorii de greutate existente la 1 decembrie. Figura 7.1 redă dinamica pentru efectivele de caprine din țara noastră pentru perioada 2007 – 2017.

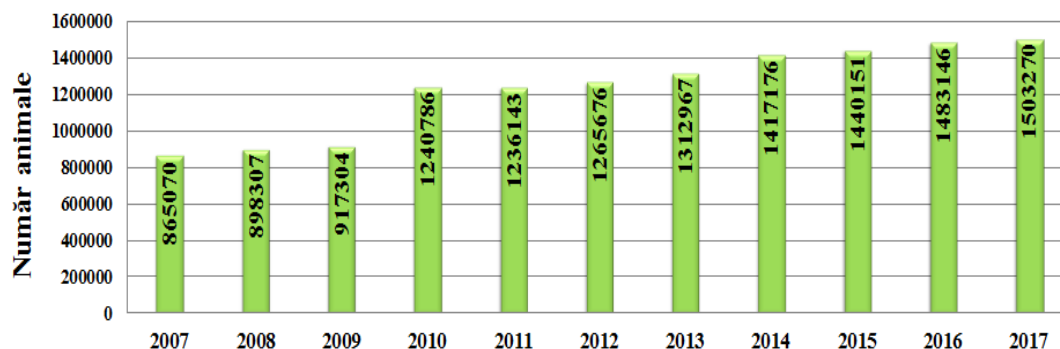


Figura 7.1 Evoluția efectivelor de caprine din România în perioada 2007-2017

Figure 7.1 Evolution of Romanian goat livestock during 2007 – 2017 period

Astfel, pe parcursul celor zece ani populația de caprine s-a dublat ajungând de la 865070 animale în 2007 la 1503270 în decembrie 2017, creștere datorată importului de caprine din rasele specializate pentru producția laptelui, concomitent cu înființare fermelor de creștere intensivă.

Și la nivel de județe se poate observa o creștere semnificativă a efectivelor de caprine. Comparând efectivele de animale din anul 2007 cu cele din 2017, se observă o dublare a efectivelor de caprine în decembrie 2017 față de anul 2007 pentru județele Botoșani (de la 14821 la 30438 de caprine) și Vaslui (de la 21717 la 40131). În județul Iași la sfârșitul anului 2017 numărul de caprine era triplu față de sfârșitul anului 2007 (de la 12293 la 36259 de caprine) (tabelul 7.2, fig. 7.2).

Tabelul 7.2/Table 7.2

Dinamica efectivelor de caprine repartizată pe județe în perioada 2007-2017

Goat livestock dynamics on counties during 2007 – 2017 period

Județul	Anul 2007	Anul 2008	Anul 2009	Anul 2010	Anul 2011	Anul 2012	Anul 2013	Anul 2014	Anul 2015	Anul 2016	Anul 2017
Botoșani	14812	14604	15973	25455	24180	26079	27726	30054	29734	31184	30438
Iași	12293	13527	14171	29042	34720	34148	34245	34781	34988	35721	36259
Vaslui	21717	21613	23025	39398	39430	38704	37717	37918	39188	39617	40131

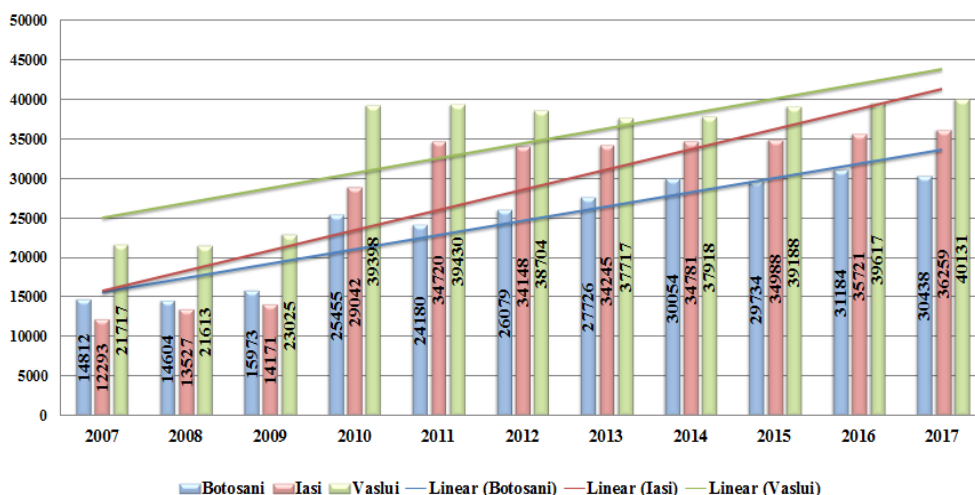


Figura 7.2 Dinamica efectivelor de caprine repartizată pe județe în perioada 2007-2017
Figure 7.2 Goat livestock dynamics on counties during 2007 – 2017 period

Efectivele de caprine luate în studiu sunt din rase autohtone Carpatină, Albă de Banat, dar și din rase specializate pentru producția de lapte: Saanen, Alpină franceză, Murciană sau din metiși ai acestora, provin din ferme specializate și din gospodăriile populației, sunt crescute atât în stabulație liberă cât și în stabulație permanentă.

Astfel, în tabelele 7.3 -7.6 și fig. 7.3 este ilustrată repartizarea efectivelor de caprine pe ani și în funcție de rasă, pentru județele Botoșani, Iași și Vaslui.

Tabelul 7.3/Table 7.3

Structura efectivelor de caprinelor pe județe și rase în anul 2015
Structure of goat herds by counties and breeds in 2015

Rase		Botoșani	%	Iași	%	Vaslui	%	Total	%
Specializate	Saanen	501	17,52	801	15,57	1557	54,46	2859	100
	Alpină franceză	0	0,00	267	13,95	1647	86,05	1914	100
	Murciană	0	0,00	0	0,00	611	100,00	611	100
	Subtotal	501	9,30	1068	19,84	3815	70,86	5384	100
Native	Carpatină Albă de Banat	716	22,36	848	26,48	1638	51,16	3202	100
Total		1217	14,17	1916	22,3	5453	63,51	8586	100

Tabelul 7.4/Table 7.4

Structura efectivelor de caprinelor pe județe și rase în anul 2016

Structure of goat herds by counties and breeds in 2016

	Rasa	Botoșani	%	Iași	%	Vaslui	%	Total	%
Specializate	Saanen	515	18,07	786	27,58	1549	54,35	2850	100
	Alpină franceză	0	0,00	252	12,91	1700	87,09	1952	100
	Murciană	0	0,00	0	0,00	586	100,00	586	100
	Subtotal	515	9,56	1038	19,26	3835	71,18	5388	100
Native	Carpatină Albă de Banat	697	21,60	869	26,94	1660	51,46	3220	100
Total		1212	14,07	1907	22,14	5495	63,79	8614	100

Tabelul 7.5/Table 7.5

Structura efectivelor de caprinelor pe județe și rase în anul 2017

Structure of goat herds by counties and breeds in 2017

	Rasa	Botoșani	%	Iași	%	Vaslui	%	Total	%
Specializate	Saanen	538	18,45	813	27,88	1565	53,67	2916	100
	Alpină franceză	0	0,00	261	13,80	1630	86,20	1891	100
	Murciană	0	0,00	0	0,00	603	100,00	603	100
	Subtotal	538	9,94	1074	19,85	3798	70,20	5410	100
Native	Carpatină Albă de Banat	717	21,90	893	27,28	1664	50,82	3274	100
Total		1255	14,45	1967	22,65	5462	62,90	8684	100

Tabelul 7.6/Table 7.6

Structura efectivelor de caprinelor pe județe și pe rase în perioada 2014-2018

Structure of goat herds by counties and breeds during 2014-2018

	Rasa	Botoșani	%	Iași	%	Vaslui	%	Total	%
Specializate	Saanen	518	18,02	800	27,83	1557	54,15	2875 (33,32%)	100
	Alpină franceză	0	0,00	260	13,55	1659	86,5	1919 (22,24%)	100
	Murciană	0	0,00	0	0,00	600	100,00	600 (6,96%)	100
	Subtotal	518	9,60	1060	19,65	3816	70,75	5394 (62,52%)	100
Native	Carpatină Albă de Banat	710	21,95	870	26,90	1654	51,15	3234 (37,48%)	100
Total		1228	14,23	1930	22,37	5470	63,40	8628	100

Ca urmare a creșterii importurilor de caprine din rase specializate pentru lapte și analizând rezultatele privind structura raselor de caprine luate în studiu, s-a constatat că din cele 8628 de caprine ponderea cea mai însemnată a fost deținută de caprinele din rasele specializate pentru producția de lapte (Alpină franceză, Saanen și Murciană) de 62,52%, respectiv un număr de 5394 de caprine, rasele autohtone, Carpatină și Albă de Banat fiind reprezentate în procent de 37,48%, respectiv 3234 de caprine.

Raportat la numărul de animale luate în studiu, ponderea cea mai însemnată a fost reprezentată de caprinele din rasele autohtone, Carpatină și Albă de Banat de 37,48%, respectiv 3234 de animale, la rasele specializate înregistrându-se: 33,32%, respectiv 2875 de caprine din rasa Saanen și metiși acestora, 22,24%, respectiv un număr de 1919 caprine din rasa Alpină franceză și metiși și 6,96%, respectiv un număr de 600 de caprine din rasa Murciană.

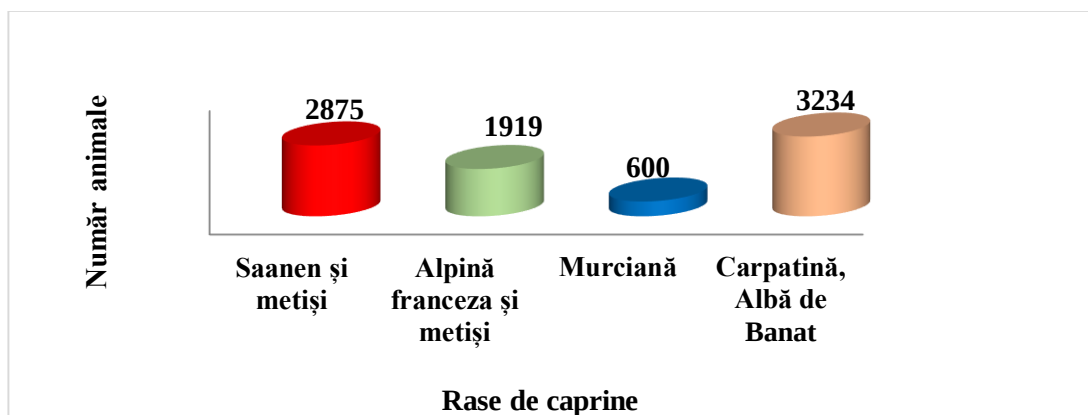


Figura 7.3 Structura efectivelor de caprine în funcție de rase în perioada 2014-2018

Figure 7. 3 Goat breeds structure during 2014-2018

În ceea ce privește modul de exploatare al animalelor, acestea sunt întreținute atât în ferme cât și în gospodăriile populației.

Caprinele provenite din ferme sunt crescute în sistem de întreținere intensiv, liber în adăposturi compartimentate, special concepute pentru: stabulația caprelor adulte în lactație, pentru tineret caprin, boxe pentru capre gestante, boxe de fătare, boxe pentru ieduți și boxe pentru țapii de reproducție. Efectivele de caprine din ferme sunt alcătuite majoritar din caprine din rasele specializate pentru producția de lapte, cum ar fi: Saanen, Alpină franceză și Murciană.

Mulsul caprelor se realiza în săli de muls special amenajate, dotate cu instalație de muls automată, cu monitorizarea individuală a producției. Pentru caprele cu colostru sau cele bolnave (mamite/tratament), mulgerea s-a realizat separat astfel încât laptele contaminat/cu antibiotice să nu treacă prin instalația centrală de colectare. Producția de lapte a variat în funcție de rasă și de perioada de lactație. În prima perioadă de lactație, cantitatea medie de lapte a caprinelor în producție a fost de 2,5-3 litri de lapte/zi/animal, în a doua

perioadă de lactație de 3,5-4 litri de lapte/zi/animal și în cea de a treia perioadă de lactație producția zilnică de lapte a fost de până la 5 litri de lapte/zi/animal.

În cazul animalelor din gospodăriile populației, acestea erau crescute în turme mixte, predominante fiind ovinele, întreținerea lor fiind în funcție de sezon: în anotimpul cald animalele erau organizate în stâni, întreținute pe pășune, iar în anotimpul rece acestea erau exploatate în saivane de capacități diferite. Mulsul caprelor se realiza manual. Majoritare au fost caprinele din rasele autohtone (Carpatină și Albă de Banat) cu o producție zilnică de lapte variind între 2 și 3,5 litri de lapte/zi.

Astfel în tabelul 7.7 este redată distribuția numerică a caprinelor examinate în perioada 2014–2018 și sistemul de exploatare.

Tabelul 7.7/Table 7.7

Distribuția caprinelor pe județe și pe sisteme de exploatare în perioada 2014-2018

The distribution of the goats on the counties and maintenance systems during 2014-2018

Sistem exploatare	Botoșani		Iași		Vaslui		Total	
	Nr caprine	%	Nr caprine	%	Nr caprine	%	Nr caprine	%
În ferme	400	32,57	850	44,04	3700	67,64	4950	57,37
În gospodărie	828	67,43	1080	55,96	1770	32,36	3678	42,63
Total	1228	100	1930	100	5470	100	628	100

Din totalul de animale examinate, procentul cel mai mare a fost la caprinele provenite din ferme, de 57,37%, respectiv un număr de 4950 de caprine, datorat grupării acestora pe o suprafață mai mică. În cazul animalelor examinate din gospodăriile populației acestea erau diseminate pe distanțe mai mari unele față de altele, contactul dintre animale fiind facilitat doar pe timpul sezonului cald, când animalele din mai multe gospodării formau o turmă pășunată la comun.

În tabelul 7.8 și fig. 7.4 este redată repartizarea pe categorii de vârstă și sex a caprinelor examinate în perioada luată în studiu.

Tabelul 7.8/Table 7.8

Structura efectivelor de caprine pe categorii de vârste și de sex în perioada 2014-2018

The structure of the goat herds by age and gender over the 2014-2018 period

Categorii		Județe			Total	
		Botoșani	Iași	Vaslui	Nr caprine	%
Adulte	Femele	756	1146	4020	5922	68,64
	Masculi	50	52	142	244	2,83
Subtotal		806	1198	4162	6166	71,47
Tineret 6-9 luni		286	502	890	1678	19,44
Tineret 0-6 luni		136	230	418	784	9,09
Subtotal		422	732	1308	2462	28,53
Total animale		1228	1930	5470	8628	100

Efectivele de animale examinate erau alcătuite majoritar din animale adulte, femele și masculi, ceea ce reprezintă 71,47%, respectiv un număr de 6166 de animale, diferența de 28,53%, respectiv un număr de 2462 de animale fiind reprezentată de tineretul caprin din anul precedent (animalele cu vârsta sub 1 an) și din anul curent (cu vârsta până în 6 luni).

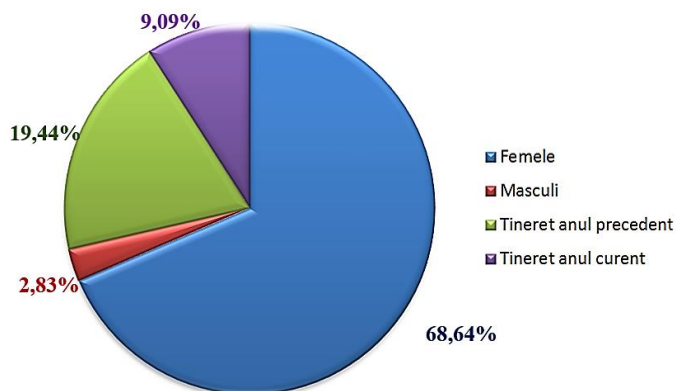


Figura 7.4 Structura efectivelor de caprine examinate pe categorii de vârste și de sex în perioada 2014-2018

Figure 7.4 The structure of the goat populations examined by age and gender during period 2014-2018

În ceea ce privește sexul animalelor, evident cele mai multe au fost femelele, 68,64%, respectiv un număr de 5922 de caprine. Ponderea masculilor este scăzută în cadrul efectivului, de 2,83%, respectiv un număr de 244 de animale, aceștia fiind destinați mai ales pentru montă. Categoria de tineret caprin cu vârste între 6-9 luni a fost prezentă în procent de 19,44%, respectiv un număr de 1678 de caprine, iar 9,09%, respectiv un număr de 784 au fost iezi cu vârste între 0-6 luni.

Rezultatele examenelor clinice efectuate la animale cu și fără semne clinice din cele trei județe, în perioada 2014 – 2018, sunt prezentate în tabelul 7.9 și fig. 7.5.

Tabelul 7.9/Table 7.9

Rezultatele examenelor clinice efectuate în perioada 2014-2018

The results of the clinical examinations carried out during 2014-2018

		Botoșani	Iași	Vaslui	Total
Caprine examinate clinic		1108	1930	5590	8628
Caprine cu semne clinice	Nr	164	97	963	1224
	%	14,80	5,02	17,23	14,19

În perioada 2014-2018, în cele trei județe din regiunea de est a României au fost examinate 8628 de caprine: 1108 caprine din județul Botoșani, 1930 caprine din județul Iași și 5590 caprine din județul Vaslui. Dintre acestea, 1224 (14,19%) au prezentat simptome clinice asociate patologiei infecțioase.

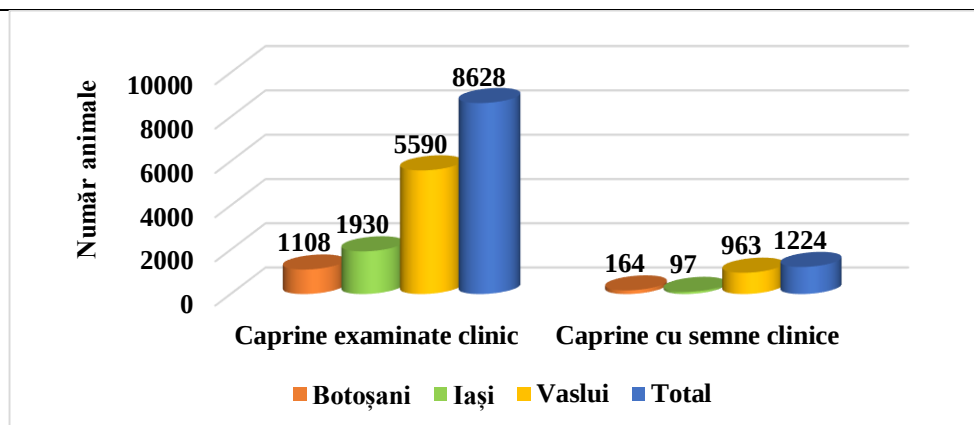


Figura 7.5 Rezultatele examenelor clinice efectuate în perioada 2014-2018

Figure 7.5 The results of the clinical examinations carried out during 2014-2018

Analiza de ansamblu a datelor epidemiologice, evidențiază o variație procentuală a patologiei infecțioase în funcție de județ. Astfel, din cele 1224 de caprine care au prezentat simptome clinice, frecvența cea mai ridicată a cazuisticii a fost înregistrată în județul Vaslui (17,23%) urmat de județele Botoșani (14,80%) și Iași (5,02%).

Ancheta epidemiologică efectuată a constatat la caprinele examinate prezența simptomatologiei determinată de agenții patogeni infecțioși specifică aparatului respirator, digestiv, de reproducție și locomotor. Exprimarea semnelor clinice variază atât în funcție de localizare cât și de rase și categoriile de vârste (tabelul 7.10 și fig. 7.6).

Tabelul 7.10/Table 7.10

Tipul patologiilor infecțioase caprine pe rase și categorii de vârste în perioada 2014-2018

Types of infectious goats pathology by breeds and age categories during 2014-2018

		Rase		Categorie de vârstă		Total	
Localizare		Specializate	Autohtone	Adulte	Tineret	Nr.	%
respiratorie		489	184	269	404	673	54,98
digestivă		140	97	70	167	237	19,36
de reproducție		98	147	245	0	245	20,02
locomotor		59	10	69	0	69	5,64
Total	Nr.	786	438	653	571	1224	
	%	64,22	35,78	53,35	46,65		100

Afecțiunile de natură infecțioasă au fost prezente la toate rasele și categoriile de vârstă. Ponderea cea mai însemnată a fost înregistrată la rasele specializate, de 64,22%, respectiv la un număr de 786 de animale, iar pentru rasele specializate și la caprinele adulte, de 53,35%, respectiv la un număr de 653 de animale. Pentru rasele autohtone s-a înregistrat o pondere de 35,78%, respectiv la număr de 438 de caprine și de 46,65%, respectiv la 571 de caprine din categoria de tineret.

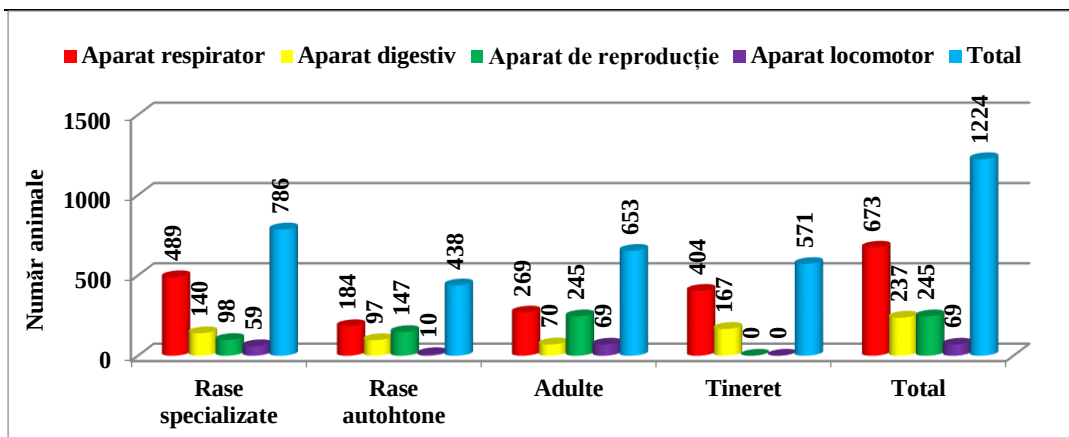


Figura 7.6 Distribuția patologiei infecțioase caprine pe rase și categorii de vârstă

Figure 7.6 Distribution of infectious goat pathology by races and age categories

Examenle clinice efectuate au evidențiat faptul că infecțiile mai des întâlnite produse de agenții patogeni infecțioși au fost cele ale aparatului respirator, de 54,98%, respectiv la un număr de 673 de animale, urmată de afecțiunile aparatului de reproducție, de 20,02%, respectiv la un număr de 245 de animale și de aparatul digestiv, la 19,36%, respectiv la un număr de 237 de animale. Cea mai mică pondere a fost înregistrată pentru afecțiunile aparatului locomotor, de 5,64%, respectiv la un număr de 69 de animale.

Din rezultatele cercetărilor privind prezența afecțiunilor respiratorii la caprinele din județele Iași, Botoșani și Vaslui, investigate în perioada octombrie 2014 – iunie 2018 (fig. 7.7), reiese că cele mai afectate sunt caprinele din rasele specializate și metișii acestora, la 72,66%, respectiv un număr de 489 de animale fiind observate simptome respiratorii.

Majoritatea caprinelor din rase specializate, cu manifestări respiratorii, provin din ferme de creștere intensivă, unde supraaglomerarea și stresul de producție sunt mai mari față de sistemul gospodăresc. Din factorii predispozanți corelați cu o incidență mare în patologia afecțiunilor respiratorii sunt: rasa, sistemul de creștere intensivă, supraaglomerarea și stresul de producție.

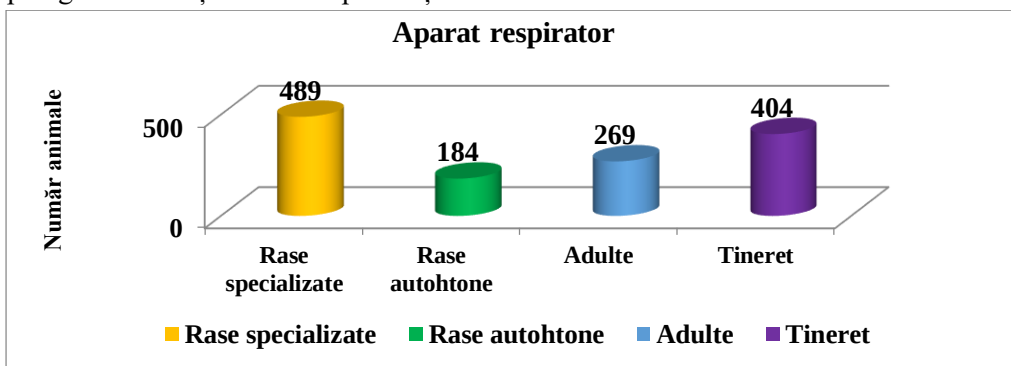


Figura 7.7 Distribuția afecțiunilor infecțioase ale aparatului respirator pe rase și categorii de vârstă în perioada 2014-2018

Figure 7.7 The distribution of infectious diseases of the respiratory system by breeds and age categories during 2014-2018

Un alt aspect privind epidemiologia afecțiunilor respiratorii constatat în cadrul anchetei efectuate este faptul că în afecțiunile respiratorii sunt incriminați mai mulți factori de stres, favorizând care acționează sinergic. Cel mai important factor de stres este factorul legat de microclimat, cazurile cele mai numeroase de îmbolnăvire au fost semnalate primăvara și toamna, de obicei în perioadele cu diferențe mari de temperatură dintre zi și noapte. Factorii de stres nutrițional, stres metabolic și stres gestațional măresc riscul de apariție al afecțiunilor respiratorii. Alți factori de risc importanți implicați în patogenizarea afecțiunilor respiratorii au fost legați de neaplicarea măsurilor de imunoprofilaxie specifică sau lipsa de aplicare a tratamentului de deparazitare internă și externă.

În ceea ce privește categoria de vârstă, afecțiunile respiratorii au fost prezente la toate categoriile de vârstă, dar cu o sensibilitate mai mare înregistrată la tineretul caprin, la 60,03%, respectiv 404 cazuri, comparativ cu animalele adulte, la 39,97%, respectiv 269 cazuri, fapt ce arată că un important factor declanșator este categoria de vârstă.

Nu s-a constatat o predispoziție a afecțiunilor respiratorii de natură infecțioasă în funcție de sex, semnele clinice fiind prezente atât la femele cât și la masculi.

Rezultatele cercetărilor privind afecțiunile aparatului digestiv determinate de agenți patogeni infecțioși la caprinele din județele Iași, Botoșani și Vaslui, investigate în perioada octombrie 2014 – iunie 2018, indică o sensibilitate mai mare a animalelor din rasele specializate, la 57,09%, respectiv la 140 de animale fiind observate semne clinice digestive (fig. 7.8).

Factorii care au condus la apariția afecțiunilor digestive sunt: deficiențele de zooigienă la nivel de fermă, depozitarea, manipularea și furajarea necorespunzătoare, administrarea de furaje contaminate, supraaglomerarea din adăposturi, precum și neaplicarea măsurilor de imunoprofilaxie specifică.

Categoria de vârstă cea mai afectată de agenți patogeni infecțioși pe aparatul digestiv este tineretul, la 70,46%, respectiv la 167 de caprine au fost constatate semne clinice digestive. Ca factori incriminanți sunt: condițiile necorespunzătoare de zooigienă din maternități, folosirea de biberoane și găleți contaminate, lipsa colostrului de bună calitate.

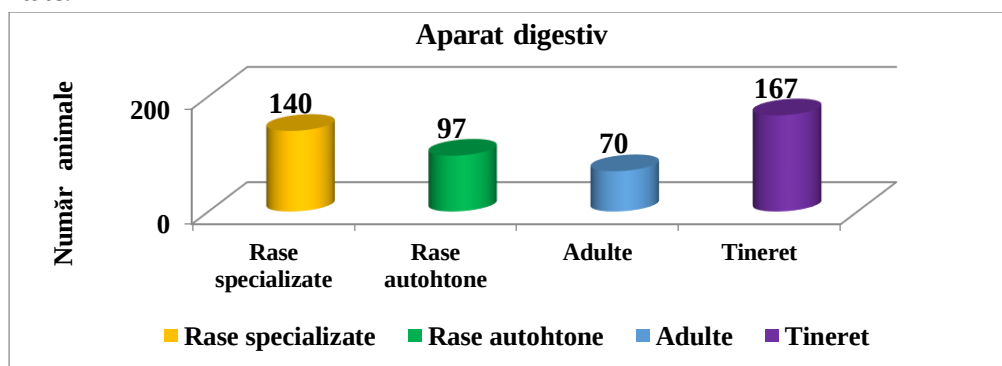


Figura 7.8 Distribuția afecțiunilor infecțioase ale aparatului digestiv pe rase și categorii de vârstă în perioada 2014-2018

Figure 7.8 The distribution of infectious diseases of the digestive system by breeds and age categories during 2014-2018

Rezultatele cercetărilor privind afecțiunile aparatului de reproducție determinate de agenții patogeni infecțioși la caprinele din județele Iași, Botoșani și Vaslui investigate în perioada octombrie 2014 – iunie 2018 (fig. 7.9) indică faptul că sunt afectate doar animalele adulte și că din cele 245 de caprine, cele mai afectate sunt caprinele din rasele autohtone (60%) crescute în turme mixte, în gospodăriile populației.

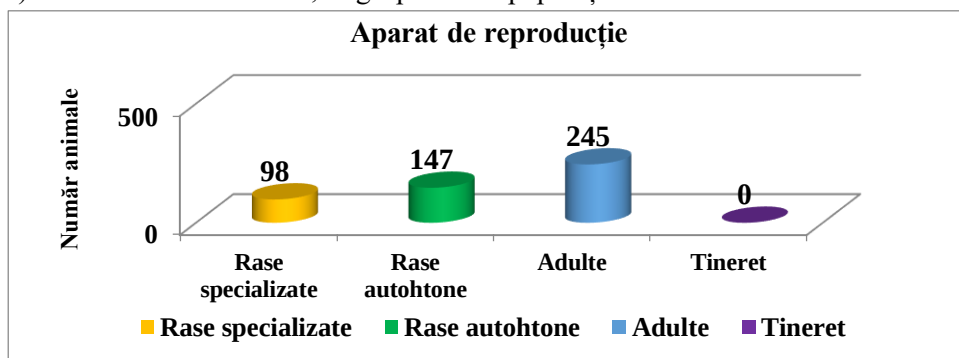


Figura 7.9 Distribuția afecțiunilor infecțioase ale aparatului de reproducție pe rase și categorii de vârstă în perioada 2014-2018

Figure 7.9 The distribution of infectious diseases of the reproductive system by breeds and age categories during 2014-2018

În cadrul anchetei epidemiologice s-a constatat că un rol important îl dețin factori precum: vârsta înaintată a animalelor, deficiențele de zooigienă, neaplicarea măsurilor de imunoprofilaxie specifică, nedeparazitarea internă și/sau externă, lipsa vaccinării, disponibilitatea serviciilor veterinare și, nu în ultimul rând, gradul de pregătire al crescătorului.

Investigațiile epidemiologice efectuate în perioada octombrie 2014 – iunie 2018 la caprinele din județele Botoșani, Iași și Vaslui cu privire la frecvența afecțiunilor podale determinate de agenții patogeni infecțioși arată că doar animalele adulte sunt afectate, cu o prezență mai mare la caprinele din rasele specializate, la 85,51%, respectiv la un număr de 59 de caprine, față de cele din rasele autohtone la care au fost prezente la 14,49%, respectiv la un număr de 10 caprine (fig. 7.10).

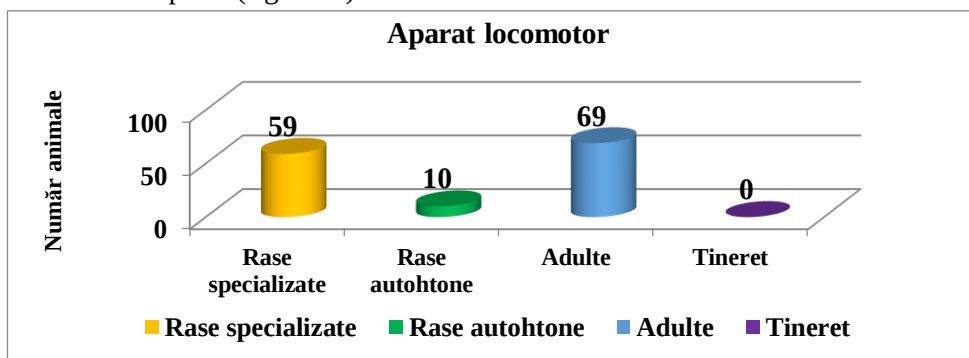


Figura 7.10 Distribuția afecțiunilor infecțioase ale aparatului locomotor pe rase și categorii de vârstă în perioada 2014-2018

Figure 7.10 The distribution of infectious diseases of the locomotor system by breeds and age categories during 2014-2018

Factorii incriminați în apariția pododermatitei sunt reprezentați de: predispoziția de rasă, condițiile improprii de zooigienă, podotehnie defectuoasă, soluri argiloase care rețin apa, furajare deficitară coroborate cu prezența simultană a agenților patogeni și a unei porți de intrare.

De la caprinele cu simptome respiratorii s-au recoltat 140 de tampoane oculare, nazale și faringiene iar postmortem pulmon și os lung nedeschis.

În urma investigațiilor bacteriologice, din probele analizate au fost izolate diferite specii bacteriene patogene. Astfel din exsudatele nazale au fost izolate: *Pasteurella multocida* (100%), *Mannheimia haemolitica* (62,14%), *Trueperella pyogenes* (92,14%), *Haemophilus spp.* (45,71%), *Streptococcus spp.* (38,57%) (tabelul 7.)

Examenul bacteriologic pentru *Pasteurella spp.* a fost efectuat din 140 de probe recoltate de la animale cu semne clinice respiratorii (tabelul 7.11). Animalele provin din ferme și din gospodăriile populației, din județele Botoșani, Iași și Vaslui, din rasele Saanen, Alpină franceză, Carpatină și Albă de Banat, cu vârste cuprinse între 6 luni – 11 ani, întreținute în stabulație liberă și/sau permanentă.

Tabelul 7.11/Table 7.11

Rezultatele examenelor bacteriologice efectuate la caprinele cu simptome respiratorii
The results of bacteriological examinations performed on goats with respiratory symptoms

Județe	Probe lucrate	<i>Pasteurella multocida</i>		<i>Mannheimia haemolitica</i>		<i>Trueperella pyogenes</i>		<i>Haemophilus spp.</i>		<i>Streptococcus spp.</i>	
		Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
Botoșani	18	18	100	12	66,66	17	94,44	8	44,44	7	38,88
Iași	33	33	100	21	63,64	27	81,82	16	48,48	12	36,36
Vaslui	89	89	100	54	60,67	85	95,05	40	44,94	35	39,33
Total	140	140	100	87	62,14	129	92,14	64	45,71	54	38,57

Pneumoniile pasteurelice au fost mai frecvente la tineretul caprin din rasele specializate cu vârsta cuprinsă între 1 și 6 luni, în sezoanele ploioase și cu diferențe mari de temperatură zi/noapte, după lotizări. Rezultatele pozitive obținute de la animalele adulte au fost atât la femele cât și la masculi, dar preponderent la rasele specializate favorizate de stresul de producție, supraaglomerare, secundar infecțiilor virale. Tratamentul a fost instituit după obținerea antibiogramelor: tratamentul general antiinfecțios, antitoxuc și de susținere timp de 10 zile și un tratament igienico-dietetic prin administrarea de rații furajere de calitate și menținerea animalelor în adăposturi igienizate. Efectivul a fost vaccinat cu Heptavac P-plus, în doză de 2 ml cu rapel la 4-6 săptămâni. Caprele se vor revaccina la un interval de maxim 12 luni. În fermele cu incidență crescută de pasteureloză este necesară administrarea unui vaccin suplimentar contra pasteurelozei. Acest vaccin se va administra cu 2-3 săptămâni înaintea apariției focarelor. Vaccinul Heptavac P-plus este recomandat să se folosească în fermele de reproducție, deoarece oferă protecție contra pasteurelozei și infecțiilor clostridiene la ovinele și caprinele adulte printr-o imunizare activă și o imunizare pasivă la miei și iezi (Tanase, 2015).

Plummer și colaboratorii (2012) menționează aspecte asemănătoare observate pentru tineretul caprin. Apariția infecțiilor cu *Pasteurella spp.* au fost prezente mai ales la tineretul de 2 săptămâni – 2 luni, asociate cu vremea severă, iar pentru cei cu vârsta între 5–7 luni, după lotizări.

Cel mai frecvent infecțiile pasteurelice sunt infecții secundare consecutiv unei infecții inițiale determinate de agenți patogeni infecțioși virali sau bacterieni cum ar fi: *parainfluența tip 3*, *adenovirus tip 6*, *virusul sincițial respirator*, *caprin herpesvirus 1*, *Bordetella parapertussis* și *Mycoplasma ovipneumonie* (Buddle ș.a., 1990; Brogden ș.a. 1998).

La 180 de caprine care proveneau dintr-o gospodărie din județul Iași, în urma examenul clinic, s-a constatat că 10 din animale prezentau o scădere a secreției lactate, laptele era de culoare gălbui-verzuie, sărat, iar în repaus se separa în două straturi cu prezența unui sediment grunjos. Toate animalele erau primipare, nedeparazitate și nevaccinate, turma fiind alcătuită din capre de rasă Carpatină, crescute pe pășune. S-a suspionat agalaxia contagioasă, cunoscută popular sub numele de „răsfugul alb”, produsă de *Mycoplasma spp.*

Tratamentul aplicat a fost, un tratament general, antiinfecțios, antitoxic și de susținere și un tratament igienico-dietetic prin administrarea de rații furajere de calitate și menținerea animalelor în adăposturi igienizate, cu recomandarea ca după 10 zile să se efectueze și deparazitarea internă. Se recomandă ca deparazitarea animalelor să se repete la 24 sau 48 de ore precum și vaccinarea efectivului cu Agalaxin (doza vaccinală este de 1ml/animal, indiferent de talia animalului). Vaccinul se administrează subcutanat, la baza cozii sau la pliul iei. Prima vaccinare se efectuează în a doua parte a gestației (începând cu luna a 3-a) iar rapelul la 14-21 de zile, fără a depăși luna a 4-a de gestație. În caz de necesitate vaccinarea se poate face după aceeași schema de vaccinare și în perioada de lactație.

În patologia infecțioasă la caprine, focare de mamită au fost descrise destul de rar. În ultimii ani, având în vedere înmulțirea fermelor private de creșterea caprinelor, patologia infecțioasă a devenit din ce în ce mai prezentă la această specie, mamita fiind una dintre infecțiile glandei mamare care uneori evoluează grav cu distucția sau cu pierderea țesutului glandular mamar uni- sau bilateral. Examenle de laborator efectuate pentru probele recoltate de la caprinele cu afecțiuni ale glandei mamare au fost puse în evidență speciile: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* și *Klebsiella spp.*

Pododermatita este o boală infecțioasă contagioasă, cu o etiologie polifactorială, caracterizată printr-o inflamație necrotică a membranei cheratogene, urmată în multe cazuri de dezongulări. Agentul etiologic principal este *Dichelobacter (Bacteroides) nodosus* dar în leziunile de pododermatită infecțioasă se mai găsesc în mod constant: *Fusobacterium necrophorum subsp. necrophorum* și *Trueperella pyogenes*, iar inconstant *Spirocheta penortha*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*; contagiozitatea bolii este asigurată de *Dichelobacter nodosus* (Perianu, 2012; Velescu, 1996).

Pododermatita a fost prezentă la caprinele ce proveneau dintr-o gospodărie a populației, turma era mixtă, preponderent alcătuită din ovine, (80) și 24 de caprine. Caprele aveau vârste cuprinse între 1,5 și 5 ani, de rasă Carpatină, vaccinate pentru agalaxie, deparazitate intern și extern. Erau adăpostite în saivane și pășunate pe un teren de pe marginea apei. La inspecție s-a constatat că unele animale se deplasau cu greutate, rămâneau în urma turmei, prezentau o șchiopătură de diferite grade, prepnoderent a membrilor anterioare. Palpația ongloanelor bolnave a relevat o sensibilitate exagerată, onglonul bolnav degaja un miros ihoros (fermentație butirică), tegumentul interdigital era congestionat, depilat parțial și acoperit cu un exsudat galben, gri-murdar. Diagnosticul a fost stabilit în baza semnelor clinice și a leziunilor de pododermatită la 10 caprine.

La apariția bolii se impune obligatoriu examenul întregului efectiv deoarece pot exista animale cu leziuni minore ce pot difuza boala. Animalele bolnave au fost izolate și supuse tratamentului, diferit, după faza de evoluție a bolii.

Ectima contagioasă este o boală infectocontagioasă a oilor și caprelor, cu evoluție acută, produsă de un virus epiteliotrop, caracterizată clinic prin erupție veziculo – pustuloasă, cu localizări predominant bucală, podale, genitale, mamare și oculare. Clinic boala evoluează supraacut la miei și iezi, cu alterarea stării de sănătate, edemul botului, urmate de o erupție veziculo–pustuloasă confluentă și masivă, pe buze și mucoasa bucală, cu adenopatie regională. Uneori din cauza extinderii leziunilor pe mucoasa respiratorie și digestivă, apar simptome de bronhopneumonie sau enterită cu sfârșit letal în 36–40 de ore. Forma acută sau subacută este cel mai des întâlnită, cu localizări bucale și peribucale și în mai mică măsură podale, mamare, oculare, fără a afecta starea generală a animalului.

Animalele examinate provin dintr-o gospodărie familială, cu un efectiv de 100 capre de rasă Carpatină care sunt crescute în stabulație mixtă, 80 cu vârsta cuprinsă între unu și 4 ani și 20 de iezi, deparazitate intern (Rombendazol) și vaccinate (Agalaxin). La examenul clinic s-a constatat febră, tulburări generale, la tineretul în vârstă de 3-4 luni apariția unei erupții veziculo-pustuloase peribucale cu aspect papilomatos, iar la adulte leziuni eruptive cu localizări pe mamelon și pe glanda mamară.

Diagnosticul de ectimă s-a stabilit pe baza anamnezei și a leziunilor caracteristice. Tratamentul a constat în izolarea animalelor bolnave (iezii împreună cu mamele lor) și asigurarea unor condiții adecvate de igienă și alimentație care au condus la vindecarea animalelor. Parțial s-a administrat un tratament local, ce a constat în îndepărtarea crustelor și aplicarea de pensulații locale cu albastru de metilen 2% timp de 3-5 zile.

Pneumonia cronică progresivă cu slăbirea până la cahexie, mastita indurativă precum și artrita anchilozantă au stat la baza suspiciunii de artrită encefalită caprină. Pentru confirmarea diagnosticului a fost efectuat examenul serologic pe 762 de probe de ser în vederea depistării anticorpilor CAEV realizat prin testul de imunodifuzie în gel de agar (AGID), utilizând kitul de diagnostic CAEV-p28 AGID, Pourquier – Montpellier. Probele au fost recoltate de la caprine din ferme și gospodării ale populației din zona rurală a județelor Botoșani, Iași și Vaslui, femele și masculi, cu vârsta de peste 6 luni, din rasele Carpatină, Albă de Banat, Saanen, Alpină franceză și metiși ai acestora.

Un număr de 134 de probe au reacționat pozitiv, ceea ce reprezintă 17,59% și 628 (88,41%) seruri au dat reacție negativă. Probele cu rezultat pozitiv provin de la caprine din județul Vaslui, din rasele Alpină franceză și Saanen, femele și masculi cu vârsta peste 6 luni.

Valori apropiate ale seroprevalenței anticorpilor CAEV au fost raportate în țări precum Tailanda (12,4-47%) (Ratanapob ș.a., 2009) și Spania (20,6%) (Sanchez ș.a., 2001) și mai mari în U.S.A. (31%) (Cutlip R.C., 1992) și Brazilia (35%) (Bandeira ș.a., 2009).

7.4 Concluzii parțiale

În urma investigațiilor epidemiologice efectuate pentru caprinele din cele trei județe s-au constatat următoarele:

1. Efectivele de caprine din județele Botoșani, Iași și Vaslui au înregistrat o creștere semnificativă, astfel, pentru perioada 2007-2017, s-a observat o dublare a numărului de animale din județele Botoșani (de la 14812 la 30438 de caprine) și Vaslui (de la 21717 la 40131 de caprine), iar pentru județul Iași triplarea populației de caprine la sfârșitul anului 2017 (de la 12293 la 36259 de caprine).
2. Examenle clinice efectuate în perioada octombrie 2014 – iunie 2018, la 8628 de caprine de pe teritoriile județelor Botoșani, Iași și Vaslui, au constatat prezența semnelor clinice la 14,19%, respectiv la un număr de 1224 de caprine. Ancheta epidemiologică efectuată a constatat la caprinele examinate prezența simptomatologiei determinată de agenții patogeni infecțioși specifică aparatului respirator (54,98%), de reproducție (20,02%), digestiv (19,36%) și locomotor (5,64%).
3. Analiza de ansamblu a datelor epidemiologice evidențiază o variație a patologiei de natură infecțioasă în funcție de rasă, etiologie și categorii de vârste. Astfel, o frecvență crescută a fost înregistrată la rasele specializate, de 64,22%, respectiv la un număr de 786 de animale, la caprinele adulte (53,35%, la 786 de animale) și pentru simptomele respiratorii (54,98%, la 673 de animale).
4. Afecțiunile de natură infecțioasă care au fost semnalate sunt cele produse de agenți patogeni infecțioși precum: *Pasteurella multocida*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella spp.*, *Dichelobacter nodosus*, *Fusobacterium necrophorum*, virusul Orf și virusul artritei encefalitei caprine.

CAPITOLUL 8. CERCETĂRI PRIVIND SEROPREVALENȚA ARTRITEI ENCEFALITEI CAPRINE ÎN ESTUL ROMÂNIEI

CHAPTER 8. RESEARCHES REGARDING CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS SEROPREVALENCE IN THE EAST OF ROMANIA

8.1 Scopul cercetărilor

Din cauza naturii restrânse a studiilor cu privire la artrita encefalita caprină, cercetările ce urmează a fi realizate în acest capitol vor avea drept scop:

- stabilirea seroprevalenței artritei encefalitei caprine atât la caprinele din ferme, cât și din gospodăriile populației din județele Botoșani, Iași și Vaslui;
- descrierea particularităților epidemiologice ale artritei encefalitei caprine.

8.2 Material și metodă

Cercetările privind seroprevalența artritei encefalitei caprine la caprine în cele trei județe s-au efectuat în perioada octombrie 2014 – iunie 2018, în acest scop examinându-se un număr de 8628 de caprine din diferite categorii de vârstă și exploatare. De la animalele examinate s-au recoltat 762 de probe în vederea efectuării examenelor de laborator viitoare.

Distribuția probelor recoltate de la caprinele din cele trei județe pe structuri de vârstă și rase este readată în tabelul de mai jos:

Tabelul 8.1/Table 8.1

Repartizarea pe județe, categorii de vârste și rase a probelor recoltate în perioada
2014-2018

Distribution by county, age and breeds of samples collected during the period 2014-2018

Județ	Rase		Categorii de vârste		Total probe
	Specializate	Autohtone	6-9 luni	peste 2 ani	
Botoșani	83	114	52	145	197
Iași	80	66	44	102	146
Vaslui	370	49	103	316	419
Total	533	229	199	563	762

În vederea realizării testelor serologice la caprinele din cele trei județe, probele de sânge au fost recoltate din vena jugulară în vacutainere HELP-VAC CLOT ACTIVATOR 6 ml și centrifugate 5 minute la 1.500 rotații/minut. Probele ușor hemolizate au fost centrifugate la 2.000 rpm timp de 15 minute. Din serul exprimat câte 1ml a fost repartizat în microtuburi de 1,5 ml și apoi depozitate la -20⁰C în vederea testărilor serologice ulterioare.

Protocol de lucru

Identificarea anticorpilor specifici pentru CAEV în ser a fost realizată cu testul de imunodifuzie în gel de agaroză (AGID), cu kitul de diagnostic CAEV-p28 AGID, Pourquier – Montpellier (fig. 8.1).

Gelul de agaroză s-a preparat din 0,7-1% agaroză în tampon Tris 0,05 M cu pH 7,2 și cu 8% NaCl și s-au turnat câte 18 ml în plăci Petri de 100 mm.

Pentru practicarea godeurilor s-a utilizat o ștanță metalică, cu un aranjament hexagonal care prezintă un godeu central, 3 godeuri periferice de 5 mm ϕ , alternând cu 3 godeuri mici de 3 mm ϕ , aflate la distanță de 2 mm și la 2 mm față de godeul central care are un diametru de 3 mm.



Figura 8.1 Kit de diagnostic pentru anticorpi CAEV-p28 AGID (original)

Fig. 8.1 Diagnostic kit for CAEV-p28 AGID antibodies (original)

Reagenții liofilizați (antigenul și serul martor pozitiv) s-au reconstituit în 4 ml apă distilată.

În godeurile periferice mari s-au depus serurile de testat (50 μ l), în godeurile periferice mici s-a depus serul standard pozitiv (25 μ l), iar în godeul central, antigenul (25 μ l).

Plăcile s-au incubat în atmosferă umedă la temperatura camerei (20–25°C), fiind examinate apoi pentru liniile de precipitare. Plăcile s-au incubat încă 24 ore (2–8°C) pentru o mai bună stabilizare a exprimării rezultatelor. Citirea rezultatelor s-a făcut cu o sursă de lumină.

Pentru realizarea studiului seroepidemiologic cadrul natural, organizatoric și instituțional a fost conferit de:

- Laboratorul de Serologie, din cadrul Facultății de Medicină Veterinară – Universitatea de Științe Agricole și de Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” din Iași.

- gospodării din zona rurală a județelor Botoșani, Iași și Vaslui;
- ferme de creștere a caprinelor pentru lapte din județele Botoșani, Iași și Vaslui.

8.3. Rezultate și discuții

Tehnica de imunodifuzie în gel de agaroză este una din cele mai utilizate metode pentru diagnosticul serologic al infecției cu *virusul arritei encefalitei caprine*, datorită specificității ridicate, costurilor scăzute și a timpului scurt de obținere a rezultatelor.

Interpretarea rezultatelor:

Validarea rezultatelor s-a făcut prin identificarea liniilor de precipitare între godeul central (cel cu antigen) și godeurile cu ser martor pozitiv.

Apariția unei linii de precipitare între godeul central și godeul periferic ce conține proba de ser testat este considerată ca fiind o reacție pozitivă, lipsa unei linii de precipitare între godeul central și godeul periferic ce conține proba de ser testat fiind o reacție negativă.

Inițial, la testul de imunodifuzie în gel de agaroză, probele de ser au fost puse în lucru într-un singur godeu, astfel că într-un grup au fost puse 3 probe diferite.

Probele la care s-au obținut rezultate pozitive, în urma acestui screening inițial, au fost retestate prin punerea în lucru în trei godeuri ale aceluiași grup, pentru verificarea rezultatului inițial. S-au obținut rezultate pozitive pentru toate probele pozitive retestate.

Aspectul unei plăci Petri, cu mediul gelozat utilizat pentru depistarea anticorpilor virusului CAE, prin metoda de imunodifuzie în gel de agaroză, în momentul citirii rezultatelor poate fi observat în fig. 8.2 și fig. 8.3.

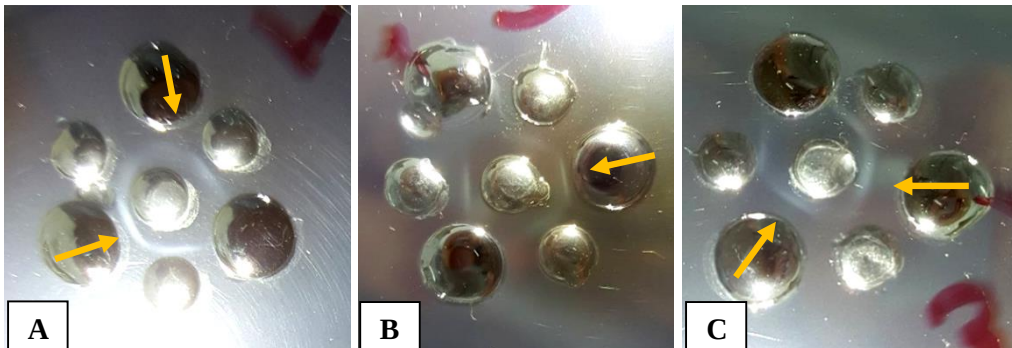


Figura 8.2 Imunodifuzie în gel de agaroză, ser pozitiv (original)

Figure 8.2 Agar gel immunodiffusion, positive serum (original)

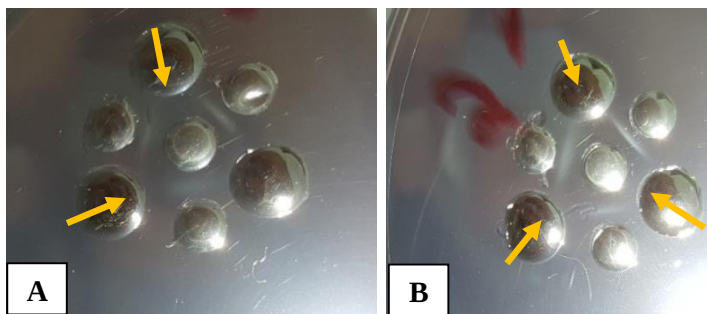


Figura 8.3 Imunodifuzie în gel de agaroză, ser negativ (original)

Figure 8.3 Agar gel immunodiffusion, negative serum (original)

Rezultatele obținute în urma cercetărilor efectuate privind semnificația diagnostică a testelor serologice efectuate pentru depistarea anticorpilor CAEV la cele 762 de probe recoltate în perioada 2014-2018, precum și repartitia acestora pe județe sunt prezentate în tabele 8.2 – 8.4.

Rezultatele testelor obținute la screeningul inițial pentru depistarea anticorpilor CAEV sunt redată în tabelul 8.2 și fig. 8.4.

Tabelul 8.2/Table 8.2

Rezultatele testelor AGID obținute la screeningul inițial
Results of AGID tests obtained at initial screening

Județ	Probe ser	Rezultat pozitiv	%	Rezultat negativ	%
Botoșani	197	0	0,00	197	100,00
Iași	146	0	0,00	146	100,00
Vaslui	419	94	22,43	325	77,57
Total	762	94	12,34	668	87,66

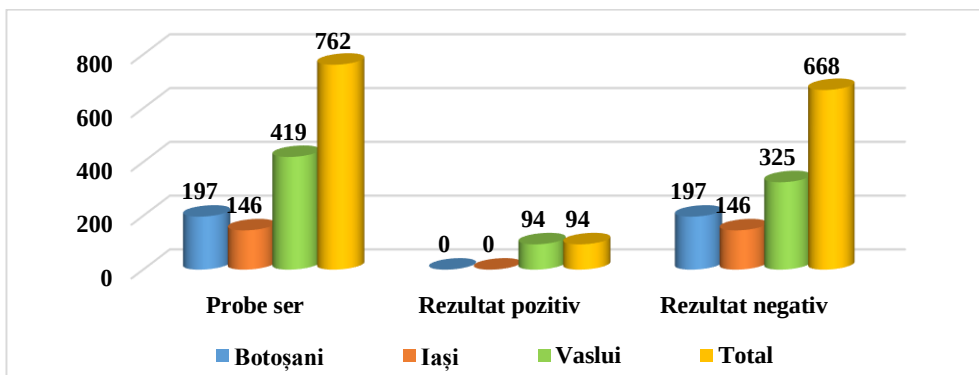


Figura 8.4 Rezultatele testelor AGID obținute la screeningul inițial
Figure 8.4 Results of AGID tests obtained at initial screening

La screeningul inițial pentru depistarea anticorpilor CAEV, s-au testat 762 de probe de ser, din care 12,34%, respectiv un număr de 94 de probe au reacționat pozitiv și 87,66%, respectiv un număr de 668 de probe au avut rezultat negativ.

Caprinele seropozitive provin dintr-o fermă de creștere intensivă din județul Vaslui, din rase de import specializate pentru producția de lapte: Saanen și Alpină franceză, cu vârste peste 6 luni. Din cele 419 seruri testate la 22,43%, respectiv la un număr de 94 de seruri s-au obținut rezultate pozitive, iar la 77,57%, respectiv la un număr de 325 de seruri rezultatele au fost negative.

Probele cu rezultate negative provin de la caprinele din județele Botoșani și Iași, din rasele autohtone și specializate, cu vârste peste 6 luni, crescute majoritar în sistem gospodăresc.

Rezultatele testelor pentru depistarea anticorpilor specifici CAE, obținute la retestarea efectuată la 6 luni, la probele la care s-au obținut rezultate negative la screeningul inițial, sunt redată în tabelul 8.3 și fig. 8.5.

Tabelul 8.3/Table 8.3

Rezultatele testelor AGID obținute la retestare la 6 luni
Results of AGID tests obtained after retesting at 6 months

Județ	Probe ser	Rezultat pozitiv	%	Rezultat negativ	%
Botoșani	197	0	0,00	197	100,00
Iași	146	0	0,0	146	100,00
Vaslui	325	40	12,31	285	87,69
Total	668	40	5,99	628	94,01

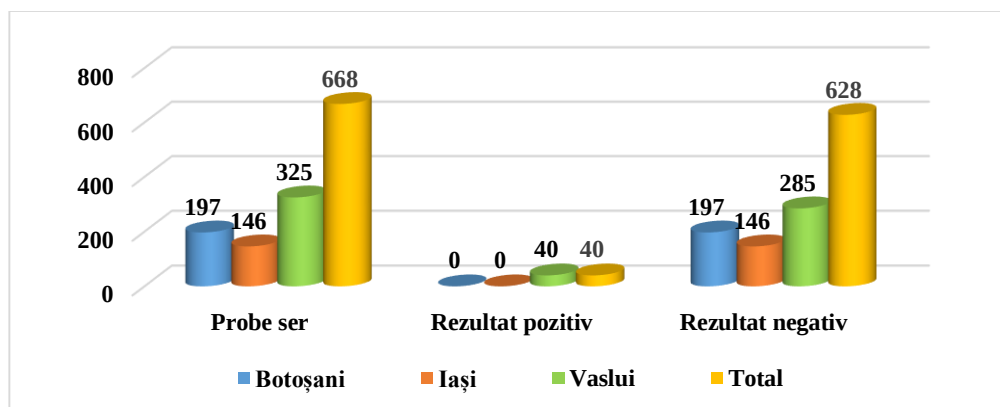


Figura 8.5 Rezultatele testelor AGID obținute după retestare la 6 luni

Figure 8.5 Results of AGID tests obtained after retesting at 6 months

Probele de ser provenite de la caprinele din județele Botoșani și Iași, care au fost retestate pentru depistarea anticorpilor CAEV, au obținut rezultate negative.

În ceea ce privește rezultatele obținute la la serurile provenite de la caprinele din județul Vaslui, la retestarea animalelor seronegative, la 12,31%, respectiv la un număr de 40 de seruri, s-au obținut răspunsuri pozitive și la 87,69%, respectiv la un număr de 285 de probe, rezultatele au fost negative.

Anticorpii anti-CAEV sunt produși post infecție, apariția seroconversiei variind de la câteva săptămâni la câteva luni. În general, în urma seroconversiei nivelul de anticorpi crește la un maxim, apoi scade până la un nivel mai mic dar stabil.

Rezultatele fals negative apărute la screeningul inițial pot fi datorate seroconversiei întârziată, producției de anticorpi mai lentă sau ca urmare a faptului că anticorpii se aflau la un nivel nedetectabil în stadiul incipient al infecției. O scădere a titrului de anticorpi poate apare și după apariția semnelor clinice (Cruz ș.a., 2009).

Rezultatele testelor pentru depistarea anticorpilor CAEV efectuate în perioada 2014-2018, la caprinele din județele Botoșani, Iași și Vaslui, sunt redată în tabelul 8.4 și fig. 8.6.

Rezultate teste AGID efectuate în perioada 2014 -2018
Results obtained at AGID tests between 2014-2018

Județ	Probe ser	Rezultat pozitiv	%	Rezultat negativ	%
Botoșani	197	0	0,00	197	100,00
Iași	146	0	0,00	146	100,00
Vaslui	419	134	31,98	285	68,02
Total	762	134	17,58	628	82,41

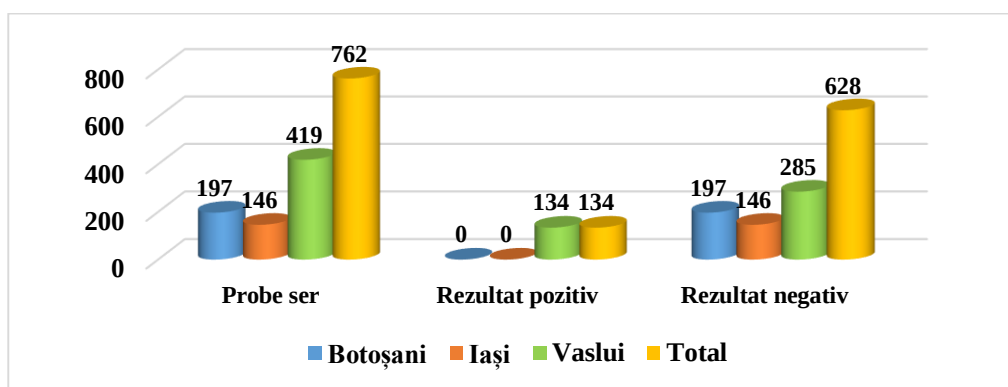


Figura 8.6 Rezultatele examenelor serologice efectuate pentru depistarea anticorpilor CAEV
Figure 8.6 Results of serological examinations performed for the detection of CAEV antibodies

Rezultatele testelor finale, efectuate pentru depistarea anticorpilor CAEV la cele 762 de caprine din cele trei județe, în perioada 2014-2018, au obținut un răspuns pozitiv la 17,59%, respectiv la un număr de 134 de caprine și răspuns negativ la 82,41%, respectiv la un număr de 628 de caprine. Valori apropiate de cele obținute ale seroprevalenței anticorpilor CAEV au fost înregistrate și în alte țări europene precum: Polonia (25-30%) (Kaba ș.a., 2011), Elveția (26,9%) (Brulisauer ș.a., 2005) și Spania (20,6%) (Sanchez ș.a., 200).

La nivel de județ s-a înregistrat o rată a seroprevalenței de 31,98%, respectiv un număr de 134 de rezultate pozitive. Și în țări precum U.S.A. (31%) (Cutlip ș.a., 1992) și Brazilia (35%) (Bandeira ș.a., 2009) au fost raportate valori ale seroprevalenței anticorpilor CAEV apropiate de cea obținută de noi. Valori mai mari s-au înregistrat în țări precum Mexic (56,8%) (Torres-Acosta ș.a., 2003) și Japonia (63,3%) (Konishi ș.a., 2004).

În cadrul anchetei epidemiologice s-au luat în considerare relatarea episoadelor din anii anteriori, s-au analizat la nivel de crescătorie condițiile de întreținere, tipul de stabulație, tipul producției, iar la nivel de individ, s-a avut în vedere specia, rasa, sexul, vârsta, starea de sănătate. În cadrul anchetei descriptive observaționale s-a ținut cont de următorii factori de risc: sistemul de creștere, sistemul de producție, mărimea efectivului, prezența ovinelor, disponibilitatea serviciilor veterinare, mișcarea animalelor, împerecherea naturală, înseminarea artificială, infertilitate la adulte și mortalitate la iezi, pășunat pe pășuni comunale.

Datele obținute au fost apreciate prin calcularea principalilor indicatori epidemiologici și transpuse în tabele care au fost exprimate ca informație finală în diagrame și grafice, putându-se obține o evaluare a situației seroprevalenței artritei encefalitei caprine în perioada octombrie 2014 - iunie 2018.

Rezultatele pozitive obținute la testele serologice efectuate pentru prezența anticorpilor CAEV la cele 762 de probe recoltate de la caprinele din cele trei județe și distribuția acestora în funcție de sistemul de exploatare sunt redată în tabelul 8.5 și figura 8.7.

Tabelul 8.5/Table 8.5

Distribuția rezultatelor pozitive pe județe și sistem de exploatare în perioada 2014-2018
The distribution of the positive results on the counties and maintenance system during 2014-2018

Sistem exploatare	Botoșani		Iași		Vaslui		Total	
	probe	+	probe	+	probe	+	Probe	+
Ferme	45	0	46	0	341	134	432	134
Gospodărie	152	0	100	0	78	0	330	0
Total	197	0	146	0	419	134	762	134

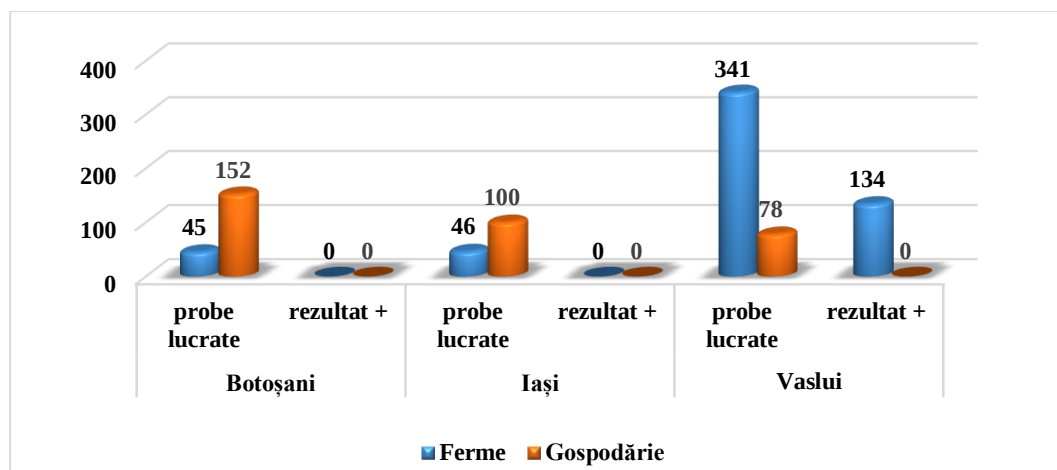


Figura 8.7 Distribuția rezultatelor pozitive pe județe și sistem de exploatare în perioada 2014-2018
Figure 8.7 The distribution of the positive results on the counties and maintenance system during 2014-2018

Probele cu rezultate pozitive au provenit de la caprinele din județul Vaslui crescute în sistem intensiv, din rasele specializate Alpină franceză și Saanen, femele și masculi cu vârste de peste 6 luni. Seroprevalența înregistrată la nivel de fermă a fost de 39,29%. Valoarea constatată este apropiată de cea obținută la noi în țară, de 40%, menționată de Enache și colaboratorii în 2017 într-un studiu preliminar cu privire la prezența MVV și

CAEV pe teritoriul României, precum, și de Gurău și colaboratorii (2015) care au raportat o valoare a seroprevalenței de 38,46% la caprinele din județul Brăila.

Rezultatele testelor serologice efectuate la caprinele din cele trei județe, corelate cu prezența semnelor clinice și categoriile de vârstă, sunt redată în tabelul 8.6.

Tabelul 8.6/Table 8.6

Prezența semnelor clinice corelate cu statusul serologic și categoria de vârstă
Presence of clinical signs correlated with serological status and age category

Status serologic	Animale examine	Semne clinice				Total semne clinice	
		Tineret 6-9 luni		Adulte			
		+	-	+	-	+	-
Seropozitive	134	6	9	100	19	106	28
Seronegative	628	0	139	0	489	0	628
Total	762	6	148	100	508	106	656
	%	0,79	19,42	13,12	66,67	13,91	88,09

La efectivul de caprine testate s-a constatat prezența semnelor clinice la 13,91%, respectiv 106 caprine, din care, la un număr de 100 (13,12%) de caprine adulte și la 6 (0,79%) caprine din tineretul caprin. Nu au prezentat semne clinice 88,09%, respectiv 656 din caprinele examinate.

În ceea ce privește prezența semnelor clinice la caprinele seropozitive acestea au fost observate la 79,10%, respectiv la un număr de 106 caprine, din care 4,48%, respectiv un număr de 6, la tineretul caprin și la 74,63%, respectiv la 100 din caprinele adulte. Nu au prezentat semne clinice 20,90%, respectiv un număr de 28 de caprine.

Procentul mic de animale cu semne clinice manifestate, și, mai ales, rezultatele pozitive obținute la animale care nu prezentau semne clinice, confirmă faptul că infecția evoluează de obicei asimptomatic și recomandă testarea serologică la animalele aparent sănătoase pentru identificarea infecției cu *virusul aritei encefalitei caprine*.

8.4 Concluzii parțiale

În urma cercetărilor privind confirmarea diagnosticului aritei encefalitei caprine, de detecție a anticorpilor specifici, prin metoda imunodifuziei AGID, efectuate în perioada 2014-2018, în cele trei județe, la 762 de probe, s-au constatat următoarele aspecte:

1. La screeningul inițial, pentru depistarea anticorpilor specifici CAEV, 12,34%, respectiv un număr de 94 de probe au reacționat pozitiv, iar 87,66%, respectiv un număr de 668 de probe, au avut rezultat negativ.
2. La retestarea după 6 luni, a celor 668 de animale seronegative, s-au obținut la 12,31%, respectiv la un număr de 40 de seruri rezultate pozitive, iar la 87,69%, respectiv la un număr de 285 de probe, rezultatele au fost negative.
3. Rezultatele testelor efectuate la cele 762 de caprine, din cele trei județe, au obținut un răspuns pozitiv la 17,59%, respectiv la un număr de 134 de caprine și răspuns negativ la 82,41%, respectiv la un număr de 628 de caprine.

4. Rezultatele fals negative pot apare într-un test AGID datorită seroconversiei întârziate, producției de anticorpi mai lentă sau ca urmare a faptului că anticorpii se află la un nivel nedetectabil în stadiul incipient al infecției, fapt ce recomandă retestarea animalelor aparent sănătoase pentru diagnosticarea serologică precoce și precisă la animalele care ar putea fi o sursă de infecție.
5. Probele cu rezultate pozitive au provenit de la caprinele din județul Vaslui crescute în sistem intensiv, din rasele specializate Alpină franceză și Saanen, femele și masculi cu vârste de peste 6 luni.
6. Cercetările privind corelarea valorii testelor serologice în diagnosticul artritei encefalitei caprine cu semnele clinice au constatat lipsa semnelor clinice la un număr de 28 de caprine, ceea ce reprezintă 20,90% din totalul de 134 de caprine seropozitive.
7. Procentul mic de animale cu semne clinice manifestate, și mai ales, rezultatele pozitive obținute la animale care nu prezentau semne clinice, confirmă faptul că infecția evoluează de obicei asimptomatic și recomandă testarea serologică la animalele aparent sănătoase pentru identificarea infecției cu *virusul aritei encefalitei caprine*.

CAPITOLUL 9. INVESTIGAȚII PRIVIND ASPECTELE CLINICE ȘI PARACLINICE ÎN ARTRITA ENCEFALITA CAPRINĂ LA CAPRINE ÎN ESTUL ROMÂNIEI

CHAPTER 9. CLINICAL AND PARACLINICAL INVESTIGATIONS CONCERNING THE CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS AT GOATS IN THE EAST OF ROMANIA

Până la izolarea virusului cauzal la baza diagnosticului artritei encefalitei caprine au stat studiile clinice și anatomopatologice, descrieri care au conferit și numele bolii, indicând faptul că cele mai afectate sunt articulațiile și creierul, acestea fiind în principal investigate.

Perioada lungă de incubație asociată cu implicarea sistemului imun în mecanismul de patogeneză, slaba manifestare a semnelor clinice ireversibile și persistența infecției pe toata durata de viață a animalului fac imperios necesare studiile cât mai amănunțite legate de modificările anato-mo-clinice și morfopatologice determinate de prezența infecției.

Investigațiile efectuate când infecția cu CAEV este cauza suspectată a bolii clinice au avut ca scop punerea în evidență precum și corelarea manifestărilor clinice prezente consecutiv infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine* cu aspectele imagistice prezente în organele de elecție.

9.1 Aspecte clinice

Artrita encefalita caprină este o boală infecțioasă cronică cu o evoluție lentă și progresivă. În majoritatea cazurilor infecția este subclinică, un număr mic din animalele infectate manifestând semne clinice progresive și netratabile cum ar fi: encefalomielita la iezi, poliartrita, pneumonia și mastita indurativă la animalele adulte.

Semnele clinice depind de forma evolutivă a bolii, de localizarea virusului, exprimate la iezi de 2-6 luni prin meningoencefalite în localizarea la nivelul sistemului nervos central și, uneori, pneumonie subclinică fără pirexie. După apariția primelor semne de meningoencefalită, evoluția este rapidă, cu paraplegie și moarte în 1-2 săptămâni. La adulte, primele semne clinice apar după vârsta de 2 ani, pe măsura ce boala avansează, cu o evoluție progresivă și ireversibilă. Localizarea articulară a virusului determină poliartrite cronice degenerative și dureroase însoțite de sinovite și bursite, uneori și de cahexie. Când localizarea virusului este respiratorie determină pneumonii interstițiale progresive însoțite și de cahexie. De asemenea, în localizarea mamară virusul artritei encefalitei caprine poate determina mastite indurative, cu modificarea consistenței glandei mamare, prezența nodulilor și indurarea parenchimului mamar.

9.1.2 Material și metodă

În cadrul examinării clinice s-au folosit metodele de examinare semiologice generale, care cuprind obligatoriu: inspecția, palpația, percuția, ascultația și termometria, precum și examinări speciale, imagistice.

Inspecția s-a efectuat în două etape: inspecția la nivel de grup și inspecția la nivel de individ. La inspecția de grup, de la distanță, s-au evaluat atât condițiile de creștere și de adăpostire, cât și starea de întreținere, comportamentul, conformația și postura animalelor. Animalele suspectate ca fiind bolnave s-au examinat individual prin examene generale, urmate de examene funcționale și fizice.

Caprinele examinate clinic au provenit din efective unde, consecutiv examenului serologic, au fost obținute rezultate pozitive la testele de imunodifuzie AGID.

Investigațiile clinice s-au efectuat în perioada octombrie 2014 - iunie 2018 pe un efectiv de 2783 de caprine din rase specializate pentru producția de lapte: Saanen (1220 de caprine) și Alpină franceză (965 de caprine) și din rasa autohtonă, Carpatină (598 de caprine). Caprinele sunt întreținute în sistem de creștere intensiv, liber în adăposturi compartimentate, cu loturi formate din 50-250 caprine/lot, pe așternut vegetal.

9.1.2 Rezultate și discuții

În registrele de evidență ale fermei, anamneza menționa: slăbirea lentă și progresivă pentru adulte, „se uscau din picioare”; pneumonia, cu accese sporadice de tuse seacă, sonoră; artrita, cu mărirea în volum a articulației carpometacarpene și o scădere a producției de lapte (de 2%).

Ca urmare a faptului că aspectele clinice diferă în forma evolutivă în funcție de vârstă, examinarea animalelor s-a efectuat ținând cont de exprimarea caracteristică a simptomelor pentru categoria respectivă de vârstă.

Structura de vârstă și rasele de caprine luate în studiu se regăsesc în tabelul 9.1 și fig. 9.1.

Tabelul 9.1/Table 9.1

Categoriile de vârste și rasele luate în studiu în perioada octombrie 2014 – iunie 2018

Age classes and breeds surveyed between October 2014 and June 2018

Categoria de vârstă		Rasa						Total	
		Saanen		Alpină franceză		Carpatină			
		nr	%	Nr	%	nr	%	nr	%
Adulte	Femele	838	30,11	667	23,97	410	14,73	1915	68,81
	Masculi	33	1,19	27	0,97	17	0,61	77	2,77
Tineret 6-9 luni		235	8,44	183	6,58	116	4,17	534	19,19
Tineret 0-6 luni		114	4,10	88	3,16	55	1,98	257	9,23
Total animale		1220	43,84	965	34,67	598	21,49	2783	100,00

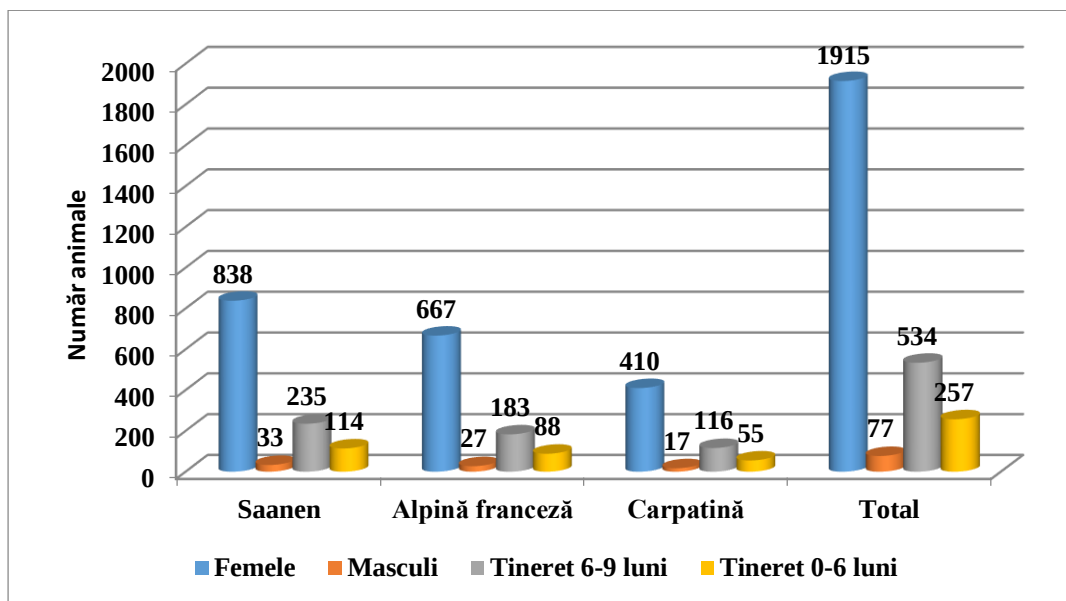


Figura 9.1 Structura de vârstă și rasele luate în studiu în perioada octombrie 2014 – iunie 2018

Figure 9.1 Age structure and breeds studied during October 2104 - June 2018

Specificul fermei este producția de lapte, prin urmare ponderea cea mai mare de animale este deținută de rasele specializate 78,51%, din care 43,84% rasa Saanen și 34,67% rasa Alpină franceză. Caprinele din rasa Carpatină reprezintă 21,49% din totalul de 2783 de animale. De asemenea, femelele în producție au fost prezente în procent de 68,81%, respectiv un număr de 1915 femele din care: 30,11%, respectiv un număr de 838, caprine din rasa Saanen, 23,97%, respectiv un număr de 667, caprine din rasa Alpină franceză și 14,73%, respectiv 410 caprine din rasa Carpatină.

Masculii au reprezentat 2,77% din efectivul fermei, respectiv un număr de 77 de țapi din care: 1,19% (33 de țapi) din rasa Saanen, 0,97 % (27 de țapi) din rasa Alpină franceză și 0,61% (17 țapi) din rasa Carpatină.

19,19%, respectiv un număr de 534 de caprine din categoria de tineret cu vârste cuprinse între 6-9 luni: 8,44%, respectiv un număr de 235 de caprine din rasa Saanen, 6,58 %, respectiv un număr 183 de caprine din rasa Alpină franceză și 4,17%, respectiv un număr de 116 caprine din rasa Carpatină.

Iezii sugari și tineretul caprin cu vârste de până la 6 luni au avut o pondere de 9,26%, respectiv un număr de 257 de iezi din care: 4,10%, respectiv un număr de 114 iezi din rasa Saanen, 3,16 %, respectiv un număr de 88 de iezi din rasa Alpină franceză și 1,98%, respectiv un număr de 55 de iezi din rasa Carpatină.

Rezultatele investigațiilor clinice efectuate privind starea de sănătate a efectivului de caprine din fermă, pe categorii de vârstă, este ilustrată în tabelul 9.2 și fig. 9.2.

Tabelul 9.2/Table 9.2

Rezultatele examenelor clinice privind starea de sănătate pe categorii de vârstă
The results of the clinical examinations on health status by age group

Categorii de vârstă	Examineate	Cu semne clinice		Fără semne clinice	
		nr	%	nr	%
0-6 luni	257	12	4,67	245	95,33
6-9 luni	534	60	11,24	474	88,76
peste 2 ani	1992	432	21,69	1560	78,31
Total	2783	504	18,11	2279	81,89

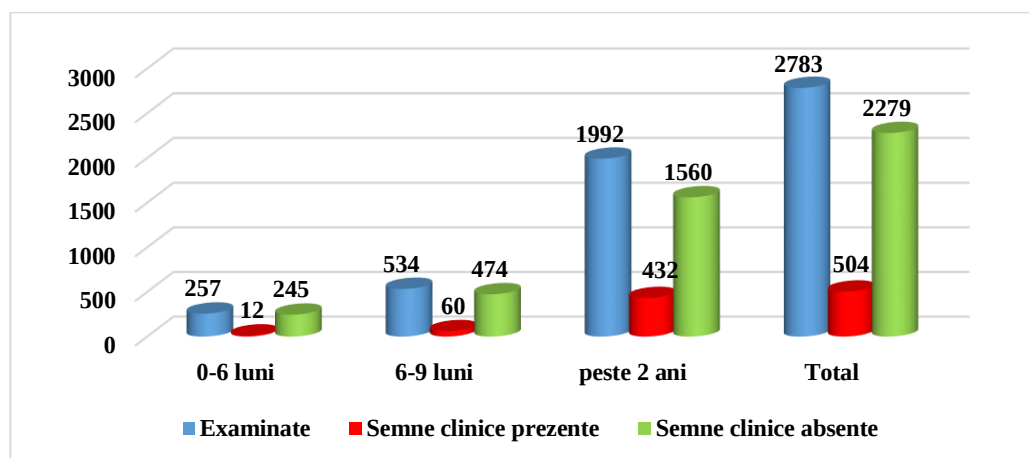


Figura 9.2 Rezultatele examenelor clinice privind starea de sănătate pe categorii de vârstă

Figure 9.2 The results of the clinical examination on health status by age group

Din cele 2783 caprine examinate clinic, la 18,11%, respectiv la un număr de 504 animale s-a constatat prezența semnelor clinice. Exprimarea semnelor clinice a fost înregistrată mai frecvent la categoria de vârstă de peste 2 ani, de 21,69%, respectiv la un număr de 432 caprine din cele 1992 examinate, comparativ cu tineretul caprin cu vârsta cuprinsă între 0-6 luni, la care a fost de 4,67%, respectiv un număr de 12 iezi din cei 257 examinați clinic.

Investigațiilor clinice efectuate la caprinele din fermă a constatat prezența în efectiv a unei infecții cu o evoluție cronică la toate categoriile de vârstă, la tineretul caprin cu vârste peste 6 luni exprimată clinic prin simptome respiratorii și slăbire progresivă, iar la caprinele adulte cu manifestări clinice localizate articular, respirator sau/și mamar, însoțite de slăbire progresivă, uneori până la cahexie.

În cadrul investigațiilor clinice efectuate, la 12 din cei 257 de iezi sugari cu vârste până în două luni, s-a observat o dezvoltare corporală încetinită, cu rămânere în urmă a creșterii și o stare de întreținere precară (fig. 9.3A), deși iezii erau vioi, activi, alerți și prezentau apetit pentru hrană (fig. 9.3B).



Figura 9.3 Iezi cu vârsta de 0-2 luni. A – Dezvoltare corporală sub media de creștere a rasei. B- Prezența apetitului pentru hrană (original)

Figure 9.3 Kids aged 0-2 months old. A - Body development below average of breed growth. B - Presence of appetite for food (original)

Istoricul anamnezei menționa cazuri sporadice de deces, fără prezența unei suferințe clinice vizibile, iezi fiind găsiți morți dimineața. Mortalitatea înregistrată a fost de 1%, fiind atribuită deficiențelor de zooigienă sau sensibilității mai crescute a raselor specializate.

La examenul clinic efectuat, la 2,25%, 12 din cele 534 de caprine cu vârste cuprinse între 6-9 luni, s-a observat evoluția pneumoniei interstițiale, cu prezența unei respirații zgomotoase, stertoroase, însoțită de o tuse frecventă, seacă, sonoră și a jetajului nazal continuu, seros și incolor (fig. 9.4). De asemenea, s-a mai observat evoluția progresivă a manifestărilor clinice, însoțită de slăbire, cu scăderea imunității însoțite de complicații bacteriene.



Figura 9. 4 Pneumonie interstițială la tineretul caprin de 6-9 luni, jetaj nazal (original)

Figure 9.4 Interstitial pneumonia at young goats for 6-9 months old, nazal discharge (original)

Examenul clinic efectuat a constatat la caprinele adulte din fermă, evoluția infecției cronice cu localizare articulară, respiratorie sau mamară, manifestarea semnelor clinice fiind în funcție de localizare. De asemenea, la caprinele la care infecția a evoluat cu mai multe localizări simultan, exprimarea semnelor clinice a fost mai gravă doar pentru una din localizări.

La 7,48%, respectiv 149 din caprinele adulte din fermă, au fost observate artrite cu o evoluție lentă, poliartrite cronice, degenerative și dureroase.

Primele simptome includ distensia capsulei articulare, mărirea moderată în volum a articulației carpometacariene, bilateral (fig. 9.5A) sau unilateral (fig. 9.5B), în deplasare animalele șchopătau ușor, fără modificări posturale. La palpație capsula articulară era edemațiată, fluctuantă, rece, mobilă și insensibilă.



Figura 9.5 Artrită stadiu incipient. A – localizare bilaterală, B – localizare unilaterală, membru stâng (original)
Figure 9.5 Early stage arthrititis. A- located bilateral, B - unilaterally located at left leg (original)

În stadiile avansate, articulația carpală era mărită în volum, cu distensia pronunțată a capsulei articulare, bilateral (fig. 9.6A) sau unilateral (fig. 9.6B). Animalele prezentau șchiopătură gravă însoțită de cifoză, rămâneau în urma turmei, deplasarea era anevoioasă, cu mersul împiedicat, săltat, călcau în pensă, evitând sprijinul pe membrul afectat (fig. 9.6A).

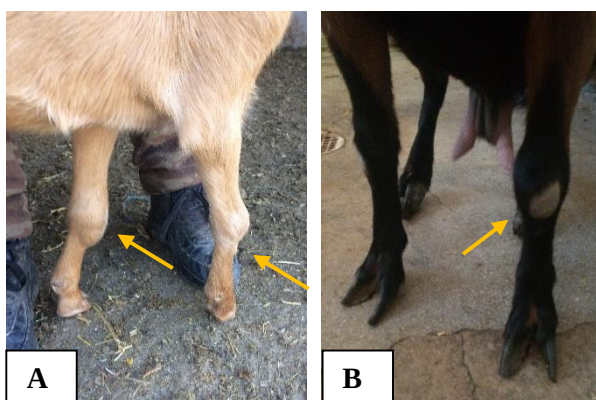


Figura 9.6 Artrită cronică A localizare bilaterală. B localizare unilaterală, membru stâng (original)
Figure 9.6 Chronic arthritis. A- located bilateral, B - unilaterally located at left leg (original)

La palpație zona era rece, dureroasă, fluctuantă, păstoasă cu o pronunțată distensie a capsulei articulare (fig. 9.7A) și anchiloza regiunii. În stațiune, animalele aveau

posturi modificate, evitau solicitarea și lăsarea greutateii pe membrul afectat care era deplasat în lateral, mărind astfel suprafața de sprijin (fig. 9.7B).

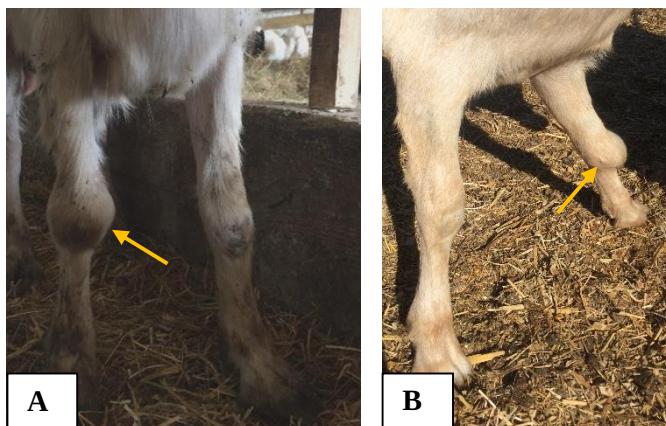


Figura 9.7 Artrită cronică cu distensia pronunțată a articulației și început de anchiloză. A – localizare unilaterală, membru drept, B-localizare unilaterală, membru stang (*original*)

Figure 9.7 Chronic arthritis with pronounced distension of the joint and started ankylosis. A - Right member unilaterally located. B- Left member unilaterally located (*original*)

De asemenea, s-a constatat o îngroșare și rigidizare a peretelui capsulei articulare, prezența crevaselor și a bătăturilor (fig. 9.8A și 9.8B). Zona era rece și dureroasă.

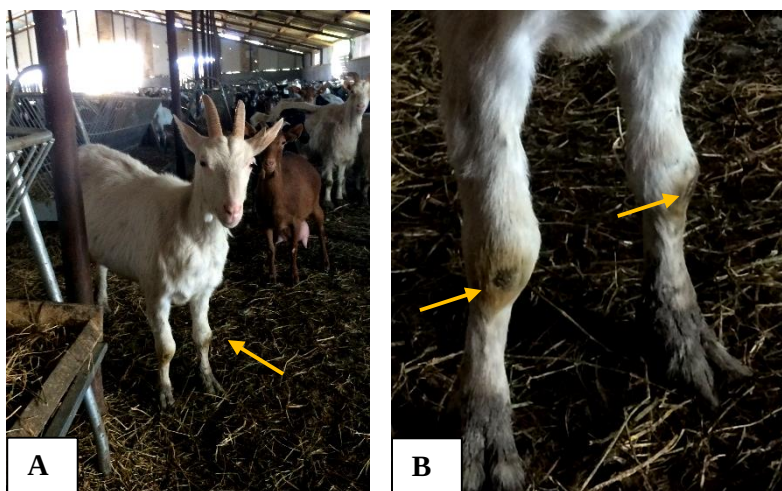


Figura 9.8 A - Artrită cronică. B – Detaliu, prezența crevaselor și a bătăturilor la nivel articular. (*original*)

Figure 9.8 A - Chronic arthritis. B – detail, the presence of cracks and corn at joint level. (*original*)

Datorită durerii și anchilozei prezente la nivel articular, animalele evitau deplasare, preferau locurile de lângă jgheaburile de furajare, pierderile în greutate sunt semnificative (fig.9.9A și 9.9B), iar slăbirea până la cahexie recomandă sacrificarea prematură a animalelor.

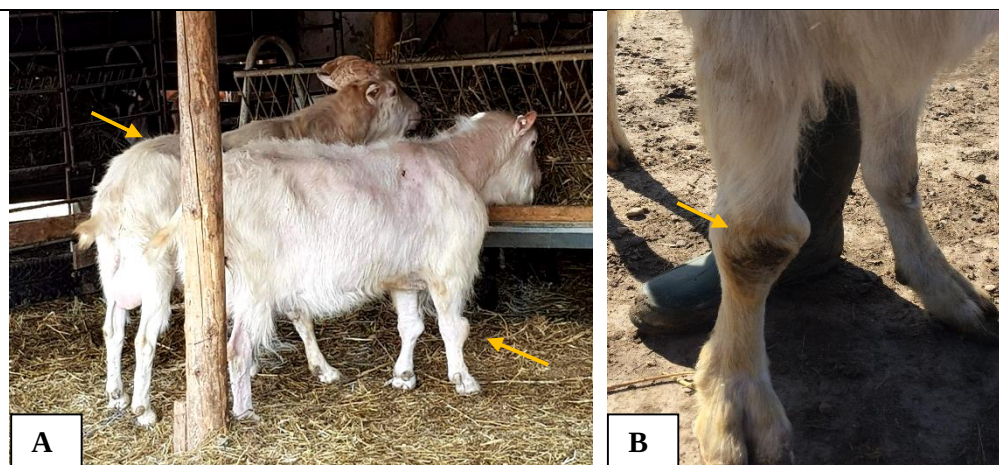


Figura 9.9 Artrită anchilozantă: A- Localizare bilaterală însoțită de slăbire pronunțată (săgeată), B – Localizare unilaterală membru drept cu modificări posturale (*original*)

Figure 9.9 Ankylosing arthritis. A- Bilateral located accompanied by pronounced weakness (arrow), B - Unilateral right-sided localization with postural changes (*original*)

La unele caprine s-a observat șchiopătură severă, cu prezența cifozei accentuate, modificări ale poziției și aspectului membrului afectat, torsiuni și flexii anormale, însoțite de o scădere pronunțată a masei corporale (fig.9.10A și 9.10B).

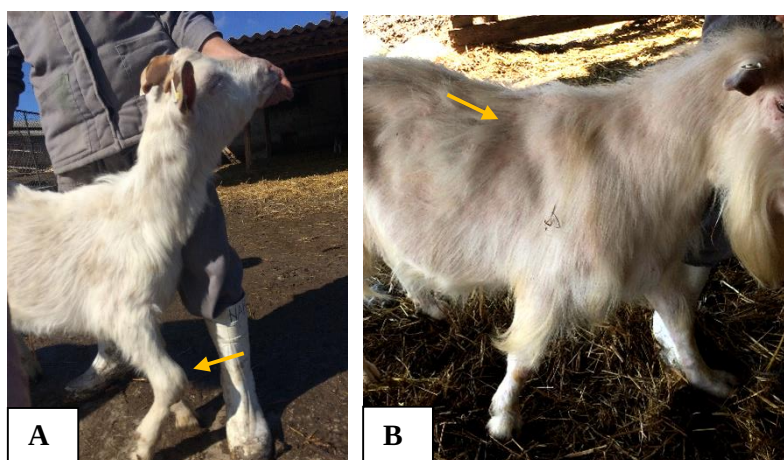


Figura 9.10 Artrită anchilozantă. A- Localizare unilaterală membru drept cu modificări posturale, cifoză. B – Localizare bilaterală însoțită de slăbire pronunțată (săgeată). (*original*)

Figure 9.10 Ankylosing arthritis. A – Unilateral right-sided located with postural changes. B - Bilateral located accompanied by pronounced weakness (arrow) (*original*)

În deplasare animalele târau piciorul afectat (fig. 9.11A), evitând sprijinul, iar în poziție patrupodală acesta rămânea flexat. La palpație s-a constatat distensia bursei sinoviale și ruptura ligamentelor tendinoase, membrul afectat fiind mai lung decât congenerul, răsucit și orientat caudal (fig. 9.11B).

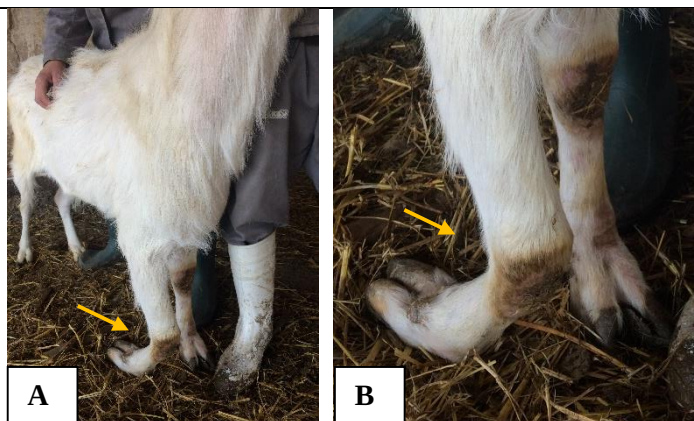


Figura 9.11 A - Artrită degenerativă. B – Detaliu, localizare unilaterală membru drept, cu ruptură de ligamente. (original)

Figure 9.11A - Degenerative arthritis. B – Detail, unilateral right-sided localization with ligament rupture. (original)

Un număr de 3 femele din rasa Aplină franceză cu artrită cronică degenerativă prezentau și o stare de întreținere rea, cu o slăbire avansată până la cahexie.

La palpația membrului afectat s-a constatat ridigizarea articulației carpene (fig. 9.12A), animalele încercau să se ridice dar, datorită imobilizării și a durerii locale prezente nu reușeau, rămâneau în decubit permanent cu membrul flexat (fig. 9.12B).

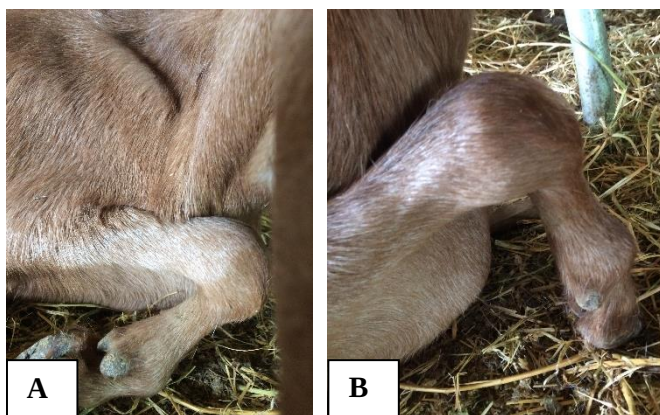


Figura 9.12 A - Artrită rigidizantă, Localizare unilaterală membru drept. B - Detaliu (original)

Figure 9.12 A - Stiffened arthrititis, unilateral right-sided localization with advanced ankylosis. B – Detail (original)

Animalele erau imobilizate în decubit sternoabdominal, nu se puteau ridica sau deplasa în zona de furajare și adăpare (fig. 9.13A), fapt ce a avut ca rezultat pierderi ale masei corporale considerabile, animalele devenind cahectice (fig. 9.13B).



Figura 9.13 A, B - Artrită rigidizantă cu atitudini forțate ale membrilor însoțită de cahexie (original)
 Figure 9.13 A,B - Stiffened arthrititis with forced attitudes accompanied with cachexia (original)

La 6,58%, respectiv la 131 de femele cu vârste peste 2 ani a fost observată o evoluție cronică, progresivă și ireversibilă a mastitei indurative.

Primele simptome au fost de ușoară scădere în volum a glandei mamare, cu atrofie uni sau bilaterală și modificări ale raportului dintre țesutul secretor și țesutul de susținere (fig. 9.14A și 9.14B), cu o scădere a producției de lapte de până la 2% .

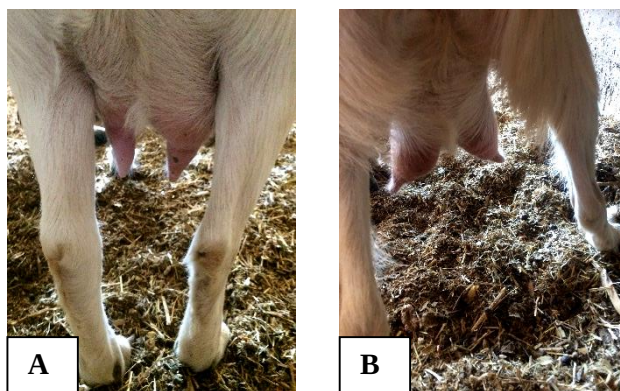


Figura 9.14 A,B – Mastită, stadiu incipient cu scăderea în volum a glandei mamare (original)
 Figure 9.14 A,B - Mastitis, early stage with decreased volume of the mammary gland (original)

La palpație s-a constatat o temperatură locală normală, o consistență ușor crescută, cu indurarea moderată a parenchimului mamar și prezența unor noduli în țesutul glandular, în număr de unu până la 6 și cu un diametru cuprins între 0,5-1cm (fig. 9.15).

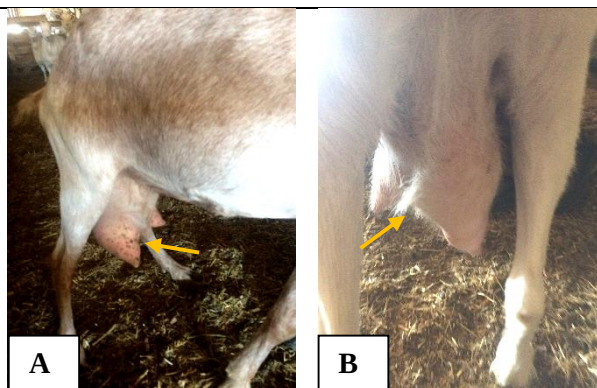


Figura 9.15 A - Mastită indurativă progresivă cu atrofie unilaterală. B – Detaliu, cu prezența de noduli (săgeată). (original)

Figure 9.15 A - Progressive indurative mastitis with unilateral atrophy. B - Detail, with the presence of the nodules (arrow) (original)

În stadiile avansate, cu evoluție cronică, s-a observat deprecierea stării generale, apatie, slăbire accentuată, atrofia glandei mamare și o scădere a producției de lapte de până la 10%. La palpație s-a constatat consistența crescută a parenchimului glandular cu prezența de noduli unici sau multipli cu diametrul de până la 6 cm (fig. 9.16A și 9.16B) sau indurarea generalizată a glandei mamare (fig. 9.16C).

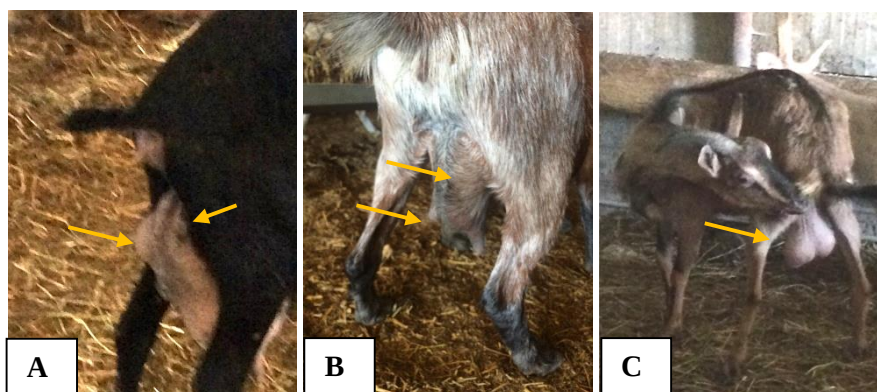


Figura 9.16 Mastită cronică indurativă. A, B – cu prezența de noduli multipli (săgeata). C - Indurare generalizată a glandei mamare (original)

Figure 9.16 Chronic indurative mastitis. A, B – with the presence of multiple nodules (arrow). C -generalized mammary gland induration (original)

În formele de evoluție severă s-au observat modificări ale stării generale, cu indurare generalizată a parenchimului glandular secretor și agalaxie, însoțite de cahexie (fig.9.17A și 9.17B), fapt care a recomandat eutanasia animalelor.



Figura 9.17 A- Mastită cronică indurativă însoțită de cahexie. B- Detaliu glandă mamară cu indurare generalizată (*original*)

Figure 9.17 A- Chronic indurativ mastitis accompanied with cahexia. B - Detail of the mammary gland with the presence of a single nodule (*original*)

La 2,91%, respectiv la 58 de caprine cu vârsta de peste 2 ani cu simptome respiratorii, s-a constatat o slabă exprimare a semnelor clinice cu o evoluție progresivă, ireversibilă, deseori însoțită de o slăbire accentuată.

În urma examenelor clinice efectuate la caprinele adulte s-a constatat prezența pneumoniei cu o respirație zgomotoasă, însoțită de o tuse seacă, mai ales când animalele erau supuse la efort. La examenul cavităților nazale s-a observat prezența jetajului, clar și filant, uni sau bilateral (fig. 9.18A și 9.18B), în cantități variabile, însoțit uneori și de epiforă, cu o secreție filantă și clară care murdărea obrăjii (fig. 9.18C).

La ascultația pulmonului s-a constatat prezența unui murmur vezicular înăsprit.



Figura 9.18 Pneumonie progresivă. Prezența jetajului nazal, A – bilateral, B – unilateral, C - epiforă (*original*)

Figure 9.18 Progressive pneumonia. Nasal discharge A - bilateral, B – unilaterally, C - epiphora (*original*)

De asemenea, în formele de evoluție evoluție cronică, s-a mai constatat prezența unei slăbiri pronunțate, cu pierderi însemnate de masă corporală, până la cahexie (fig. 9.19A și 9.19B).

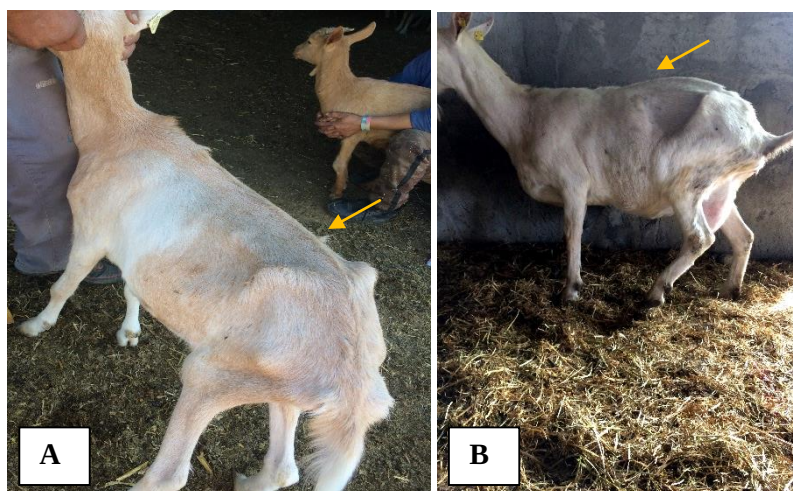


Figura 9.19A, B - Pneumonie cronică însoțită de cahexie (săgeata) (original)
Figure 9.19 A,B - Chronic pneumonia accompanied by cachexia (arrow) (original)

La un număr de 6 femele din rasa Alpină franceză secrețiile nazale și oculare erau galben verzui, vâscoase, uscate, aglutinând firele de păr din jurul nărilor sau pleoapelor.

Sindromul de slăbire progresivă până la cahexie a fost prezent la caprinele la care boala a avut o evoluție cronică cu localizări, animalele cachectice fiind ușor de identificat la nivel de turmă datorită aspectului fizic specific, apatiei, deplasării anevoioase, cu pauze lungi pentru a-și recăpăta forțele, adoptării poziției sternoabdominale prelungite, de regulă lângă jgheabul de furajare.

Evoluția manifestărilor clinice constatate diferă în funcție de localizare și de categoria de vârstă, fapt ce reiese și din tabelul 9.3 și fig. 9.20.

Tabelul 9.3/Table 9.3

Distribuția simptomelor în funcție de localizări raportate la categoria de vârstă
Symptoms distribution by location based on age category

Categorii de vârstă	Examineate	Simptome									
		articulare		mamare		respiratorii		slăbire progresivă		Total cazuri	
		Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
0-6 luni	257	0	0,00	0	0,00	0	0,00	12	4,67	12	4,67
6-9 luni	534	0	0,00	0	0,00	12	2,25	48	8,99	60	11,24
peste 2 ani	1992	149	7,48	131	6,58	58	2,91	94	4,72	432	21,69
Total	2783	149	5,35	131	4,71	70	2,52	154	5,53	504	18,11

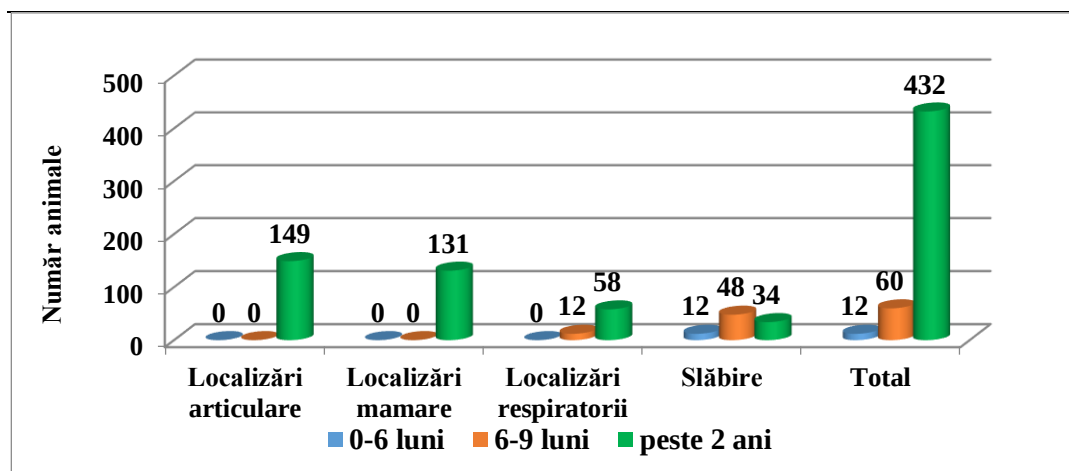


Figura 9.20 Distribuția simptomelor în funcție de localizare și categoria de vârstă

Figure 9.20 Symptoms distribution by location based on age category

În urma examenelor clinice efectuate la efectivul de 2783 de caprine din fermă, s-a constatat că cel mai frecvent este prezent sindromul de slăbire progresivă, prezent la 5,53% (154 animale) de caprine din toate categoriile de vârstă.

La caprinele adulte cu vârste peste 2 ani s-a constatat prezența artritei la 5,35% (149 animale), a mastitei la 4,71% (131 de animale) și la 2,52% (70 de animale) caprine simptome respiratorii.

Rezultatele investigațiilor clinice efectuate la caprinele din fermă au constatat următoarele semne clinice, prezente în funcție de localizări și categorii de vârstă:

- Sindromul de slăbire progresivă a fost prezent la: 4,47% (12) iezi din categoria de vârstă de 0-6 luni, 8,99% (48) din tineretul caprin cu vârste între 6-9 luni și la 4,72% (94) de caprine cu vârste peste 2 ani.
- Artritele și poliartritele articulară au fost prezente la 7,48%, respectiv la 149 de caprine adulte cu vârste de peste 2 ani. Pentru categoria de tineret nu au fost înregistrate artrite.
- Mastita indurativă a fost prezentă la 6,58%, respectiv la 131 de caprine cu vârste peste 2 ani.
- Manifestările clinice cu localizare respiratorie au fost prezente la tineretul caprin cu vârste între 6-9 luni la 2,25% (12) și la 2,91%, respectiv la 58 de caprine cu vârste peste 2 ani.

Din analiza rezultatelor obținute în urma examinărilor clinice efectuate la caprinele din fermă, reiese că boala evoluează cu o slabă exprimare a semnelor clinice, la toate categoriile de vârstă, cu o variație procentuală cuprinsă între 2,25% și 8,99%, valorile obținute fiind în concordanță cu cele menționate în literatura de specialitate.

Rezultatele examenelor clinice, efectuate la efectivul de 2783 de caprine din fermă, structurate pe rase, vârste și localizări sunt redată în tabelul 9.4.

Distribuția simptomelor observate pe categorii de vârste și rase
Distribution of observed symptoms on age and breeds categories

Rase	Caprine examinate	Categorie de vârstă	Simptome									
			articulare		mamare		respiratorii		slăbire progresivă		Total	
			Nr	%	Nr	%	Nr	%	Nr	%	Nr	%
Saanen	114	0-6 luni	0	0,00	0	0,00	0	0,00	6	1,19	6	1,19
	235	6-9 luni	0	0,00	0	0,00	6	1,19	23	4,56	29	5,75
	871	peste 2 ani	78	15,48	76	15,08	20	3,97	43	8,53	217	43,06
Alpină franceză	88	0-6 luni	0	0,00	0	0,00	0	0,00	6	1,19	6	1,19
	183	6-9 luni	0	0,00	0	0,00	6	1,19	19	3,77	25	4,96
	694	peste 2 ani	71	14,09	55	10,91	38	7,54	37	7,34	201	39,88
Carpatină	55	0-6 luni	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	116	6-9 luni	0	0,00	0	0,00	0	0,00	6	1,19	6	1,19
	427	peste 2 ani	0	0,00	0	0,00	0	0,00	14	2,78	14	2,78
Total	2783	-	149	29,56	131	25,99	70	13,89	154	30,56	504 (100%)	

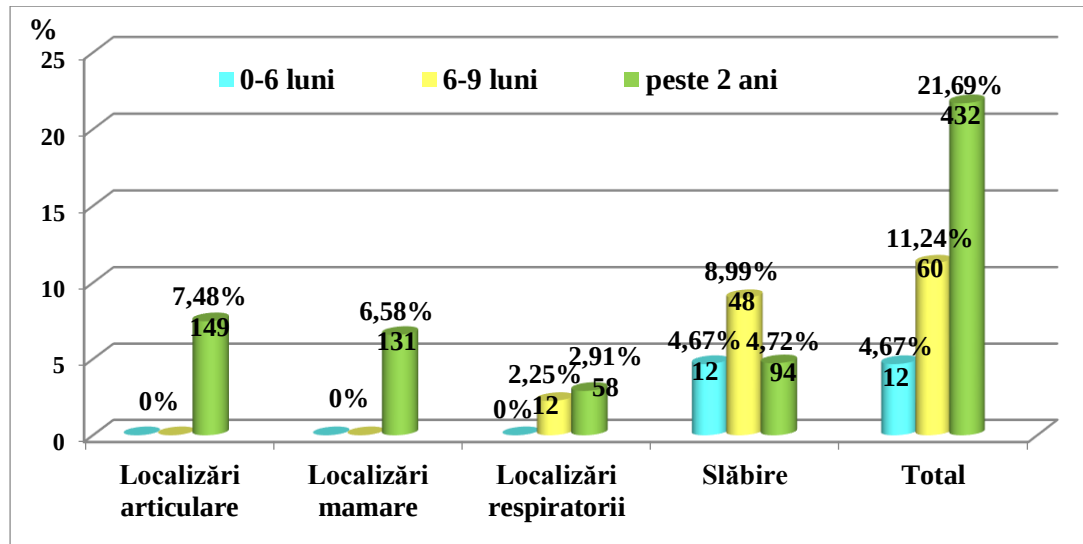


Figura 9.21 Distribuția simptomelor pe localizări, categorii de vârstă și rase

Figure 9.21 Symptoms distribution by location, age and breed

Manifestările clinice cu localizare articulară, artritele și poliartritele degenerative, au fost prezente la categoria de vârstă de peste 2 ani, la 29,59%, respectiv la un număr de 149 de caprine din rase specializate. Din rasa Saanen au fost 78 de caprine (15,48%), iar din

rasa Alpină franceză 78 de caprine (14,09%). La caprinele din rasa Carpatină nu au fost înregistrate artrite.

Manifestările clinice cu localizare mamară, mastitele indurative, au fost prezente la caprinele adulte cu vârsta de peste 2 ani, la 25,99% (131) de caprine din rase specializate, la 15,08% (76) de caprine din rasa Saanen și la 10,91% (55) de caprine din rasa Alpină franceză. Caprinele din rasa autohtonă nu au prezentat mastite.

Manifestările clinice cu localizare respiratorie, pneumoniile interstițiale, au fost prezente la caprinele din rase specializate, la 13,89% (70) de caprine, atât la adulte cât și la tineretul de 6-9 luni. Astfel, la caprinele adulte, cu vârste de peste 2 ani, la 3,97% (20) de caprine din rasa Saanen și la 7,54% (38) de caprine din rasa Alpină franceză. La tineretul caprin de 6-9 luni semnele clinice respiratorii au fost prezente la 1,19% (6) caprine din rasa Saanen și la 1,19% (6) caprine din rasa Alpină franceză.

Sindromul de slăbire progresivă a fost prezent la 154 de caprine, respectiv 18,38%, la toate categoriile de vârste. Din cele 504 caprine cu simptome clinice, la un număr de 484 de caprine din rasele Alpină franceză și Saanen, reprezentând 22,15%, din totalul de 2185 de caprine din rase specializate, iar la caprinele din rasa Carpatină, la 20 de animale, respectiv un procent de 3,33% din totalul de 600 de caprine din rasa autohtonă.

Ca urmare a faptului că aspectele anatomoclinice diferă în forma evolutivă în funcție de vârstă, examinarea animalelor s-a efectuat ținând cont de exprimarea caracteristică a simptomelor pentru categoria respectivă de vârstă.

9.1.3 Concluzii parțiale

În urma investigațiilor clinice efectuate în perioada 2014-2018 la caprinele din fermă s-au constatat următoarele aspecte:

Examenele clinice efectuate la efectivul de 2783 de caprine din fermă, au constatat evoluția cronică cu localizări (articulare, respiratorii și mamare) exprimată clinic prin poliartrite cronice degenerative, pneumonii interstițiale și mastite indurative.

Sindromul de slăbire a fost prezent la 5,53%, respectiv la un număr de 154 de caprine din toate categoriile de vârste.

La caprinele adulte cu vârsta peste 2 ani s-a constatat prezența artritei la 5,35%, respectiv la un număr de 149 de caprine, a mastitei indurative la 4,71%, respectiv 131 de animale și la 2,52%, respectiv un număr de 70 de animale pneumonie interstițială.

La tineretul caprin cu vârste până în 6 luni s-a constatat o formă clinică cu evoluție subacută a pneumoniei însoțită de slăbire progresivă.

Infecția cu *virusul artritei encefalitei caprine* evoluează la caprinele din rase specializate, cronic cu localizări, cu o slabă exprimare a semnelor clinice la toate categoriile de vârste, cu valori cuprinse între 2,25% și 8.99%.

9.2 Aspecte imagistice

Artrita encefalita caprină este o boală infecțioasă cronică cu evoluție lentă și progresivă care determină leziuni grave și ireversibile la nivelul țesuturilor și organelor de elecție ale virusului evidente în stadiile tardive ale bolii.

Investigațiile imagistice prin examene radiologice și ecografice au fost efectuate în vederea orientării diagnosticului, evidențiind modificările morfologice asociate simptomatologiei exprimate clinic.

9.2.1 Material și metodă

Examenale imagistice efectuate, radiologic și ecografic s-au efectuat pentru simptomatologia pulmonară, articulară și mamară.

Tehnicile de examinare radiologică folosite s-au ales în funcție de organul vizat (Vulpe ș.a., 2014). S-a folosit radiografia computerizată cu obținerea imaginilor diagnostice digitale interpretate direct pe monitorul unui computer cu ajutorul Examion XCR Smart.

În examenul radiologic al unei zone corporale cu substrat osos s-a ținut cont de dimensiunea oaselor vizate, vârsta animalului și s-au descris modificările legate de mărime, formă, localizare, număr, margini și densitate (Vulpe ș.a., 2014).

Examinările radiologice ale pulmonului, articulației carpometacarpene și ale glandei mamare s-au realizat fără sedare, cu contenționarea animalelor pentru adoptarea poziției optime și, dacă a fost cazul, folosirea suporturilor ajutătoare.

Examinarea ecografică a glandei mamare s-a realizat fără sedare, în poziție patrupodală.

Modul de examinare, alegerea transductorului și a frecvenței sondei s-au ales în funcție de organul vizat. S-a utilizat ecografia în modul B, bidimensională, deoarece furnizează imagini în timp real, fiind și cea mai utilizată metodă de ultrasonografie clinică (Mircean ș.a., 2017), realizată cu ajutorul Ecografului General Electric, model Logiq V5, echipat cu sonda microconvexa 8C, cu frecvența 7-10 MHz și transductor liniar L-12RS cu frecvența 8-12 MHz,

Pregătirea animalelor a constat în toaletarea prin tundere a învelișului pilos cu îndepărtarea restului de păr.

9.2.2 Rezultate și discuții

Examenale radiologice efectuate pentru caprinele cu artrite, care prezentau o mărire în volum a articulației carpometacarpiană au relevat diferite aspecte:

La membrul anterior stâng, articulația carpometacarpiană, incidență medio-laterală, poziție oblică s-au observat următoarele aspecte:

- Articulație mărită în volum pe baza augmentării țesuturilor moi (radioopacitate crescută). Se observă reacții periostale pe marginea anterioară a epifizei distale a radiusului; reacții periostale de legătură între rudimentul metatasean și metarsul IV (fig.9.22).



Figura 9.22 Imagine radiografică - membrul anterior stâng, articulația carpometacarpiană, incidență medio-laterală, poziție oblică la capră. Articulatie mărită în volum pe baza augmentării țesuturilor moi, radioopacitate crescută.(original)

Figure 9.22 Radiographic image - left anterior leg, carpometacarpal joint, medial-lateral incidence, oblique position. Increased joint volume based on soft tissue augmentation, increased radiopacity (original)

- Radioopacitate crescută intrasinovială cu linie de radiotransparență la marginea capsulei articulare – posibil proces infecțios. Reduse reacții periostale observate la fața anterioară a carpenelor și a extremității distale a radiusului (fig. 9.23A).
- Articulatie mărită, radioopacitate sinovială crescută, reacții periostale pe marginea laterală a radiusului (fig. 9.23B), pe marginile laterale ale metatarsului, scleroză redusă a marginii epifizare a radiusului și metatarsului. Linie de radiotrasparență vizibilă la marginea sinoviei.



Figura 9.23 A -Radiografie membrul anterior stâng, articulația carpometacarpiană mărită în volum. B – reacții periostale pe marginea laterală a radiusului. (original)

Figure 9.23 A -Radiography of left anterior limb, enlarged carpometacarpal joint in volume. B - periosteal reactions on the lateral edge of the radius. (original)

La membrul drept (fig 9.24A):

- Articulație mărită în volum pe baza augmentării țesuturilor moi – aici se observă radioopacitate crescută datorită procesului inflamator, posibil și datorită acumulării de lichid sinovial.
- Epifiza distală a radiusului, ulnei și oasele carpiene nu prezintă modificări de radiostructură. Se observă reacții periostale în jurul epifizei proximale a metacarpului, cu un caracter acicular – se observă radioopacitate crescută a rudimentului metacarpului V.
- Radiostructura porțiunii dorsale a epifizei metacarpului III este ușor modificată, cu aspect neomogen și cu reacție periostală atașată (caracter relativ laminar). Această structură suplimentară determină iritarea membranei sinoviale și astfel apar zone de radioopacitate cu aspect mineral (calcificare)(fig. 9.24B) în masa tumefacției articulare, anterior de oasele carpiene.

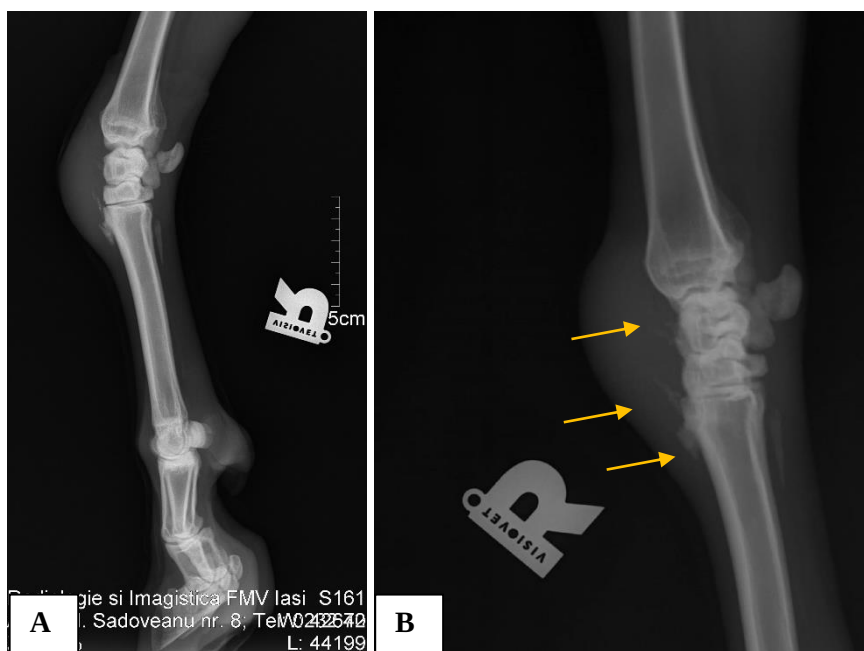


Figura 9.24 A -Radiografie membrul anterior drept, articulația carpometacarpiană, incidență medio-laterală.

B – Zone de radioopacitate cu aspect mineral, calcificare (săgeți). (original)

Figure 9.24 A -Radiography of right anterior limb, carpo-metacarpal joint, medio-lateral incidence.

B-Mineral aspect radiopacity zones, calcification (arrows). (original)

Cartilajele articulare, lichidul sinovial și capsula articulară nu pot fi vizualizate pe imaginea radiologică dacă nu există modificări patologice la acest nivel. Boala inflamatorie articulară poate avea o etiologie septică sau aseptică și implică inflamarea membranei sinoviale exprimată radiologic prin radioopacitate difuză, în cazul extinderii procesului inflamator și modificări degenerative articulare, în cazul proceselor inflamatorii cronice (Vulpe ș.a., 2014).

Aspectul radiografic al articulației carpometacarpene, cu mărirea în volum a articulației, acumularea de lichid sinovial la nivelul bursei și prezența de depozite de

material mineralizat în zona periarticulară au fost menționate de Crawford și colaboratorii în studiul cu privire la componența și aspectul țesutului conjunctiv la caprine diagnosticate cu artrită encefalită caprină (Crawford ș.a., 1980).

Radiografia glandei mamare efectuată pentru o caprină seropozitivă din rasa Saanen, în vârstă de 4 ani, cu atrofia glandei mamare și prezența unei ușoare indurații a parenchimului glandular s-au pus în evidență următoarele aspecte (fig. 9.25):

- marginile glandei mamare și ale mameloanelor au netitate normală (sunt bine circumscrise);
- în masa glandei se observă zone de calcificare localizate;
- unul din mameloane prezintă de asemenea o zonă localizată de calcificare.

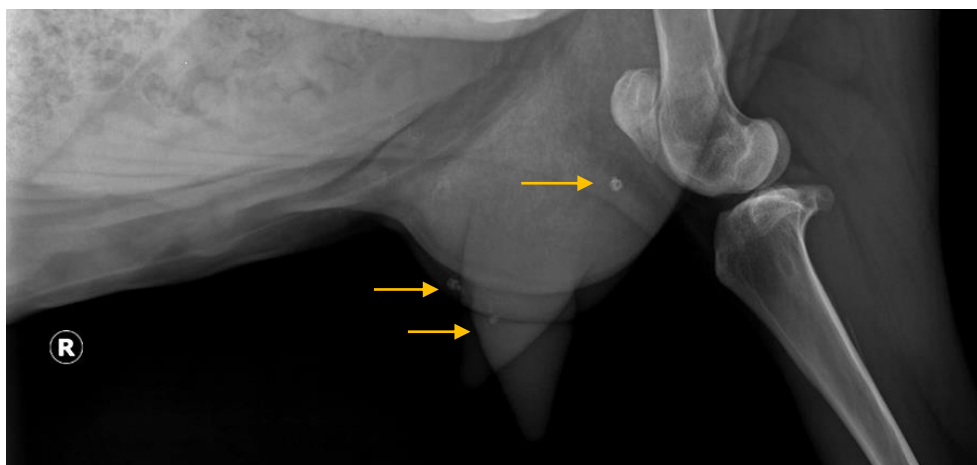


Figura 9.25 Radiografie glanda mamară, incidență latero-laterală dreapta. Prezența zonelor de calcificare (săgeata) (original)

Figure 9.24 Radiography mammary gland, right latero-lateral incidence. The presence of calcification zones (arrow) (original)

Ecografia glandei mamare evidențiază pentru țesutul glandular mamar un aspect, hiperecogen, omogen, cu o zonă anecogenă, liniară, reprezentată de un vas de sânge. Se observă prezența semnalului Doppler la nivelul zonei anecogene ce confirmă prezența vasului (culoare roșie) și diferențiază față de canalele galactofore (culoare albastră) (fig. 9.26A).

Pe eșantionul Doppler se observă zone cu semnal ce confirmă prezența vaselor de sânge și prezența fluxului sanguin la nivelul parenchimului glandular. Zonele anecogene fără semnal sunt reprezentate de canalele galactofore (fig 9.26B).

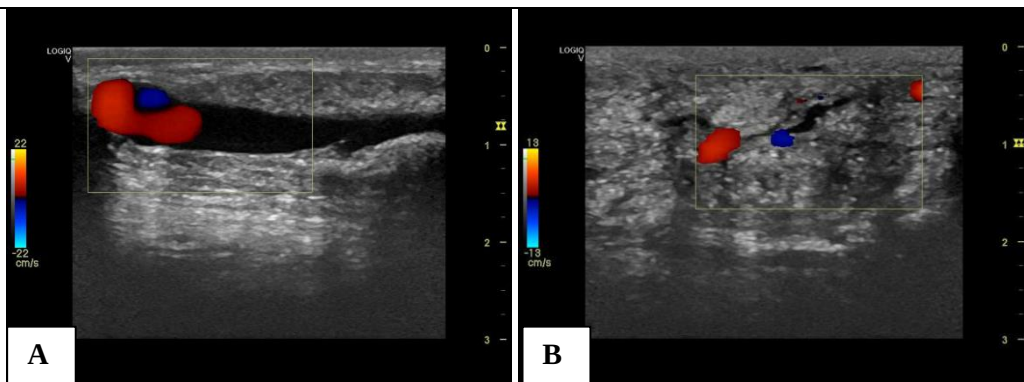


Figura 9.26 Ecografie glandă mamară, incidență latero-laterală dreapta A- Aspect normal al glandei mamare. B -Prezența semnalului Doppler la nivelul zonei anecogene (original).

Figure 9.26 Ultrasound of the mammary gland, right latero-lateral incidence A - Regular aspect of the mammary gland. B- The presence of the Doppler signal at the anecogenous area. (original)

S-a observat prezența unei zone circulare anecogene (reprezentată de secreția lactată, cu prezența unor particule ecogene, în mișcare), circumscrisă de o zona cu ecogenitate crescută și o capsulă hiperecogenă, reprezentând cisterna mamară (fig. 9.27A) Aspectul normal al glandei mamare cu ecogenitate medie, granulație mare și omogenitate normală, cu prezența unor zone punctiforme sau liniare reprezentate de vase de sânge sau canale galactofore este prezentat în fig. 9.27B.

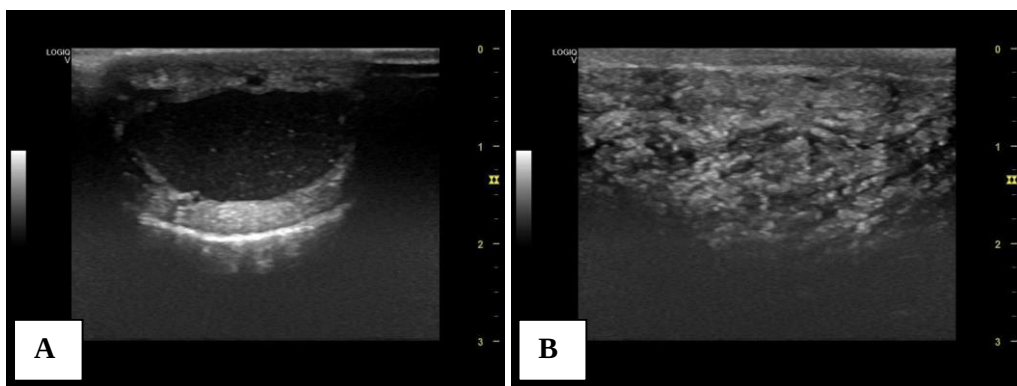


Figura 9.27 Ecografie glandă mamară. A-.Cisterna mamară B - Aspect normal al țesutului glandular (original)
Figure 9.27 Ultrasound of the mammary gland. A-Breast Tissue B Normal appearance of the glandular tissue (original)

În partea stânga a imaginii (fig. 9.28A) s-a observat o zonă cu ecogenitate medie, granulație mare și omogenă – reprezentată de țesutul glandular, iar in partea dreaptă a imaginii, s-a observat formațiunea cu aspectul specific cisternei mamare (fig. 9.28B).

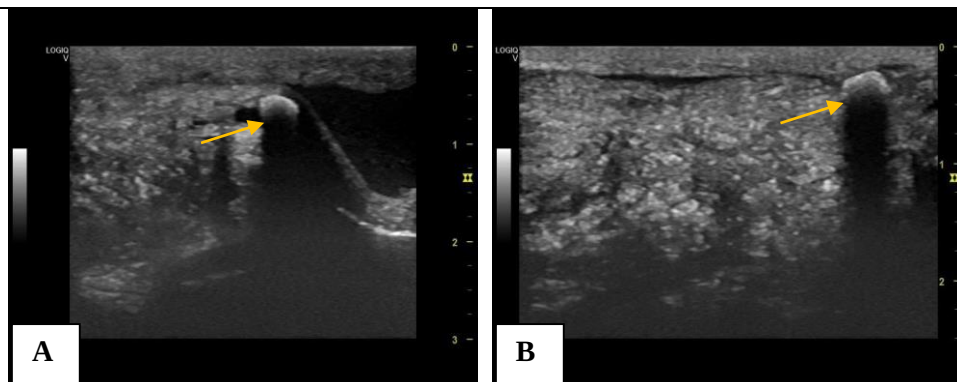


Figura 9.28 Ecografie glandă mamară. A - o zonă hiperecogenă, hiperreflectivă, cu aspect de boltă, – formațiune mineralizată în țesutul glandular mamar (săgeata). B- Detaliu (original)

Figure 9.28 Ultrasound of the mammary gland. A -hyperecogenic, hyperreflective, vaulted appearance, - mineralized formation in mammary glandular tissue (arrow). B- Detail A B (original)

Central, în planul superior se observă o zonă hiperecogenă, hiperreflectivă, cu aspect de boltă, ce formează ventral un con de umbră datorat formațiunii mineralizate din țesutul glandular mamar (fig. 9.29).

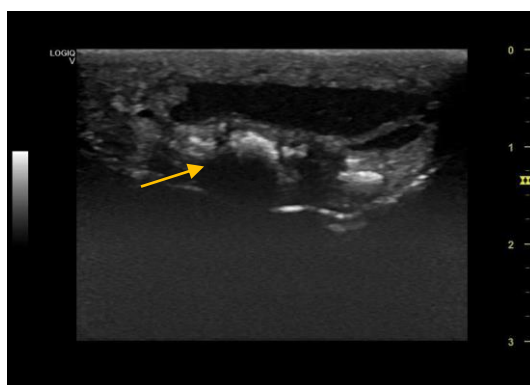


Figura 9.29 Ecografie glandă mamară. Multiple mineralizări (original)

Figure 9.29 Ultrasound of the mammary gland. Multiple mineralization area (original)

Radiografiile pulmonului realizate la caprinele care prezentau simptome respiratorii au relevat următoarele aspecte (fig. 9.30):

- Articulațiile sternebrelor apar moderat îngroșate, cu margini neomogene și spații îngustate.
- Traheea intratoracică apare cu calibru moderat îngustat, cu traiect sinuos.
- Cordul apare rotit cranial, cu aspectul cranial al acestuia având o zonă de contact crescută cu sternul.
- La nivel pulmonar se observă un model interstițial difuz, localizat în special în lobii diafragmatici. Perihilar, se observă trei zone circumscrise de radioopacitate crescută, suprapuse pe aria de proiecție a limfonodurilor traheo-bronșice.
- Vasele pulmonare apar moderat îngroșate.

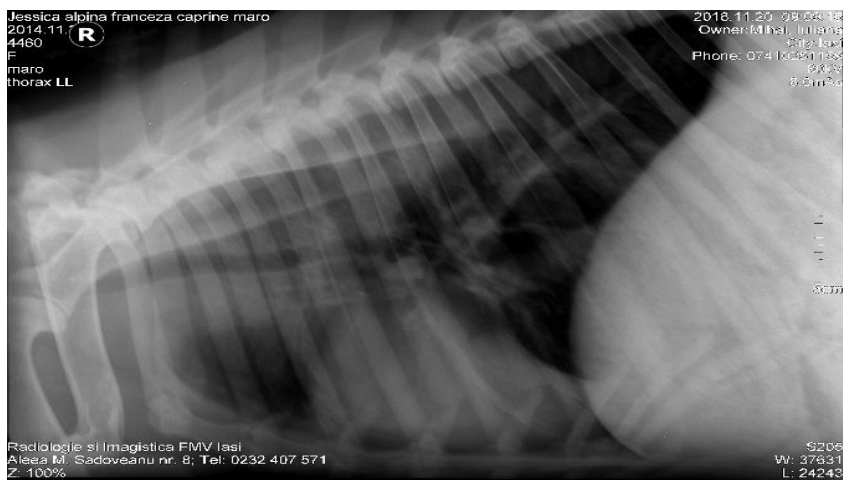


Figura 9.30 Imagine radiologică a toracelui de capră, incidență lateral dreapta (original)

Figure 9.30 Radiological image of the goat thorace, right lateral incidence (original)

Diagnostic diferențial: bronhopneumonie, limfadenopatie, cardiomegalie dreapta (posibil ca urmare a patologiei pulmonare – cord pulmonar cronic).

9.2.3 Concluzii parțiale

În urma examenelor imagistice efectuate s-au constatat următoarele aspecte:

- 1 Radiografiile articulației carpometacarpene pun în evidență mărirea în volum a articulației, acumularea de lichid sinovial la nivelul bursei și prezența de depozite de material mineralizat în zona periarticulară, ce pot fi asociate cu semnele clinice din evoluția cronică cu localizare articulară a artritei encefalitei caprine.
2. Radiografiile și ecografiile glandei mamare pun în evidență prezența zonelor de calcificare localizate, modificări de structură ale parenchimul glandular, ce pot fi asociate cu evoluția cronică cu localizare mamară a infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine*.
3. Radiografiile pulmonare nu pot fi asociate cu leziunile din evoluția cronică cu localizare respiratorie a infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine*.

***CAPITOLUL 10. CERCETĂRI PRIVIND ASPECTELE
MORFOPATOLOGICE ÎN ARTRITA ENCEFALITA CAPRINĂ LA
CAPRINE ÎN ESTUL ROMÂNIEI***

***CHAPTER 10. RESEARCH CONCERNING MORPHOPATHOLOGY IN
THE CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS AT GOATS IN THE
EAST OF ROMANIA***

Artrita encefalita caprină este o boală multisitemică, cu evoluție cronică, lentă și progresivă, cu modificări lezionale localizate datorate imunopatogenezei virusului, exprimate macroscopic prin meningoencefalite, artrită infiltrativă proliferativă, pneumonie interstițială și mamită indurativă.

Simptomatologia este polimorfă și este determinată de tropismul tulpinii virale pentru țesuturile țintă, de vârstă, de specia afectată, fondul genetic al rasei și al individului. În general, leziunile majore sunt prezente la unul dintre organele de elecție, dar pot fi afectate și alte organe, la același animal, variind în severitate. Modificările produse la nivelul organelor și țesuturilor sunt vizibile mai ales la nivel microscopic, caracteristic fiind infiltratul cu celule mononucleare.

Investigațiile efectuate când infecția cu CAEV este cauza suspectată a bolii clinice au avut ca scop atât punerea în evidență, precum și corelarea leziunilor macroscopice și microscopice prezente post-mortem consecutiv infecției nu doar în țesuturile de elecție ale virusului.

10.1 Aspecte morfopatologice

Diagnosticul post-mortem se bazează pe leziunile tipice, dar non-patognomonice care apar la nivelul țesuturilor țintă ale virusului artritei encefalitei caprine: sistemul nervos central, pulmonul, glanda mamară și articulația.

În forma de evoluție cu localizare articulară, leziunea primară este prezentă, cel mai frecvent, la nivelul articulației carpometacarpene. Alte posibile localizări sunt la nivelul articulației metacarpale, articulației tarsale și metatarsale precum și la nivelul ligamentului nugal sau la nivelul joncțiunilor vertebrale. Articulația afectată va fi mărită în volum datorită sinovitei progresive cronice, iar în cazurile avansate cu fibroza capsulei articulare, eroziuni și distrucții ale cartilajelor.

În forma de evoluție cu localizare respiratorie leziunea principală este pneumonia interstițială limfocitară. Pulmonii sunt de culoare gri-roz cu multiple focare mici, albe, nu colabează, păstrează amprenta coastelor, sunt grei și la proba paharului, nu plutesc. Limfonodurile bronhiale sunt mărite în volum.

Când este afectată glanda mamară, este prezentă mamita indurativă, iar limfonodurile aferente sunt mărite în volum. Parenchimul mamar este modificat, este dur, sunt prezenți noduli de mărimi variabile.

În forma neurologică leziunea primară este localizată la nivelul creierului sau a măduvei spinării.

Pentru a pune în evidență leziunile prezente consecutiv infecției virusului artritei encefalitei caprine s-au efectuat examene morfopatologice pentru caprinele la care s-a suspiciat boala.

10.1.1 Material și metodă

Examele morfopatologice s-au efectuat pe un număr de 65 cadavre provenite de la caprine seropozitive la testul serologic AGID, pentru 7 iezi din rasa Alpină franceză, cu vârste peste 6 luni și pentru un număr de 58 de caprine adulte cu vârste peste 2 ani, respectiv un număr de 27 caprine din rasa Alpină franceză și un număr de 31 caprine din rasa Saanen.

În vederea realizării cercetărilor propuse pentru evidențierea tabloului lezional, s-a recurs la utilizarea examenului morfopatologic clasic, pe cadavre proaspete.

Examele morfopatologice au fost efectuate în cadrul Laboratorului de Anatomie Patologică, din cadrul Facultății de Medicină Veterinară – Universitatea de Științe Agricole și de Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” din Iași.

10.1.2 Rezultate și discuții

În urma examenelor morfopatologice efectuate s-au evidențiat aspecte ale leziunilor localizate, specific categoriilor de vârste, după cum urmează:

a) Aspecte morfopatologice în localizarea respiratorie la tineretul caprin

Examele morfopatologice s-au efectuat pe cadavrele a 7 iezi din rasa Alpină franceză, care, în viață, prezentau manifestări clinice de pneumonie însoțită și de o slăbire pronunțată.

La examinarea exterioară a cadavrelor s-a putut observa slăbirea pronunțată a acestora și prezența la nivelul cavităților nazale și oculare a unei secreții albe, transparente, uscate care murdărea obrații. La nivelul limfonodurilor prescapulare s-a putut observa o ușoară mărire în volum a acestora. Nu au fost înregistrate modificări la examenul țesutului conjunctiv subcutanat și al limfonodurilor poplitee.

La examenul general al cavității abdominale nu s-au înregistrat modificări caracteristice.

La deschiderea cutiei toracice, pulmonul avea un aspect dens, marmorat, de culoare roz-cenușie, leziunile fiind prezente în lobii apicali, cardiaci, specifice bronhopneumoniei subacute (fig. 10.1).

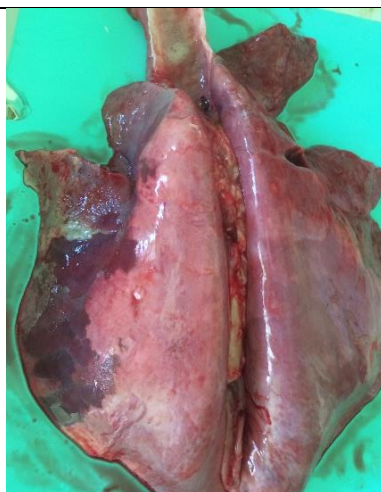


Figura 10.1 Pulmon de capră Bronhopneumonie subacută (original)

Figure 10.1 Goat lung. Subacute bronchopneumonia (original)

La examinarea traheei, s-au observat spumozități la nivelul acesteia (fig. 10.2).

La examinarea limfonodurilor traheobronșice s-a observat o congestie discretă cu o ușoară mărire în volum și o consistență puțin crescută.



Figura 10.2 Trahee de capră, prezența spumozităților (original)

Figure 10.2 Goat trachea, the presence of sparkling secretions (original)

La examinarea laringelui, faringelui și esofagului nu s-au observat modificări.

La examenul organelor interne din cavitatea toracică, nu s-au observat modificări la nivelul cordului, acesta prezentând aspecte normale atât la nivelul epicardului, miocardului, endocardului, cât și la nivelul atriilor și a ventriculelor.

La nivelul rinichilor și splinei, în urma examinării formei, volumului și consistenței nu s-au observat modificări.

De asemenea, un aspect normal a fost observat și la nivelul ficatului, stomacului și pancreasului. Masa gastrointestinală nu prezenta modificări din punct de vedere al aspectului, iar examenul conținutului a relevat caractere normale din punct de vedere al culorii și mirosului.

b) Aspecte morfoopatologice în localizarea articulară la caprinele adulte

Examenele necropsice efectuate pe cadavrele a 19 caprine care prezentau articulațiile carpometacarpene mărite în volum, respectiv pe 10 cadavre provenite de la caprine din rasa Alpină franceză și pe 9 cadavre provenite de la caprine din rasa Saanen, au evidențiat următoarele rezultate:

La examinarea exterioară a cadavrelor s-a putut observa slăbirea pronunțată a acestora.

La nivelul articulațiilor carpometacarpene s-a observat o mărire în volum a acestora (fig. 10.3A-F) și eroziuni ale pielii regiunii, iar la nivelul articulațiilor tarsiene nu s-au observat modificări.

S-a constatat modificarea aspectului țesutului conjunctiv subcutanat (fig. 10.3B și 10.3C) cu prezența de sinechii tegumentare.

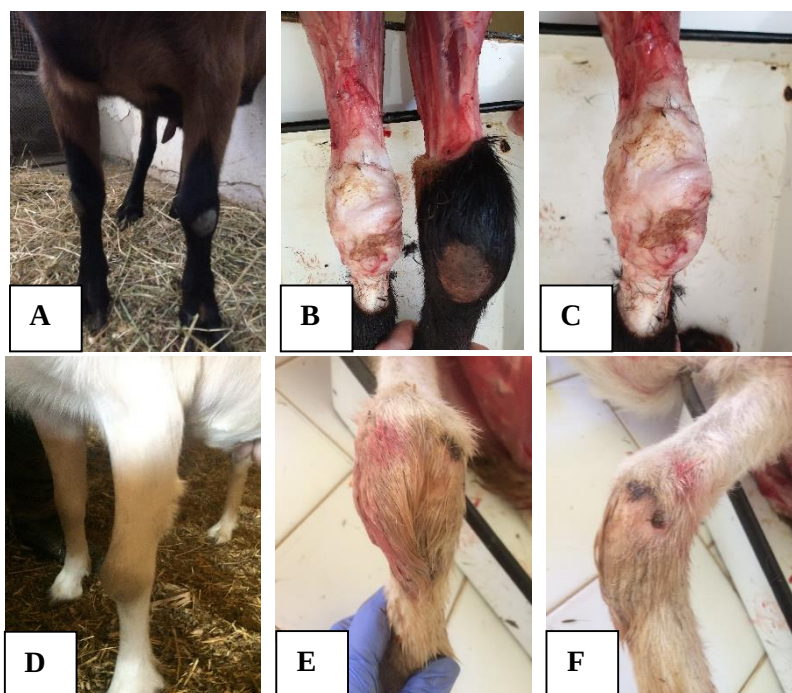


Figura 10.3 Articulație carpometacarpiană de capră. A - F Mărirea în volum a articulației. B-C Țesut conjunctiv modificat (original)

Figure 10.3 Carpometacarpal goat joint. A-F Increased joint volume. B-C Modified connective tissue (original)

La secționarea capsulei articulare s-a constatat o rezistență crescută la tăiere și o îngroșare a pereților acesteia (fig. 10.4 A).

La o caprină din rasa Alpină franceză lichidul sinovial de la nivelul capsulei articulare era clar, filant. În regiunea patei membrului stâng s-a observat o zonă de eroziune a cartilajului articular, cu necroză, și prezența unei formațiuni ovale, lucioase și bine delimitată cu diametrul de 0.5 cm (fig. 10.4B).

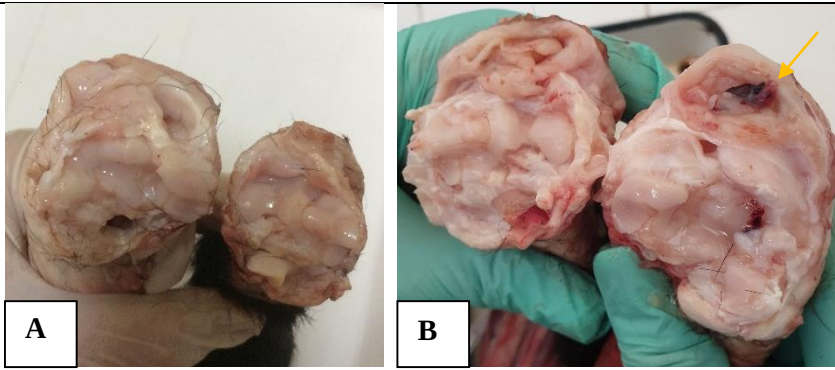


Figura 10.4 Articulație carpometacarpiană de capră. A - Secțiune sagitală, capsulă articulară cu pereții îngroșați. B- Zonă de necroză a cartilajului articular (săgeată) (original)

Figure 10.4 Carpometacarpal goat joint. A - Sagittal section, articular capsule with thickened walls. B- Necrosis area of articular cartilage (arrow) (original)

La o caprină din rasa Saanen, la secționarea capsulei articulare, s-a constatat prezența unei colecții de culoare alb-gălbuie, cazeoasă (fig. 10.5A-B) care deforma articulația. Examenul microbiologic a identificat prezența *Escherichia coli*.

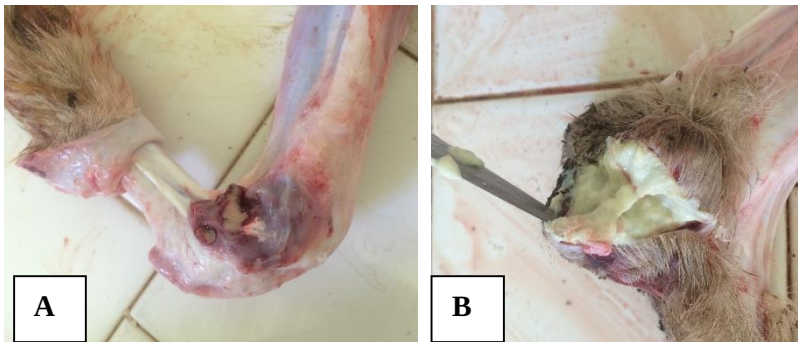


Figura 10.5 A - Articulație carpometacarpiană de capră. B – Aspectul cazeos al conținutului capsulei articulare (original)

Figure 10.5 A - Carpometacarpal goat joint. B - Caseouse appearance of the contents of the joint capsule (original)

c) Aspecte morfopatologice în localizarea mamară la caprinele adulte

Examenul necropsic efectuat pe cadavrele a 21 de caprine care prezentau modificări la nivelul glandei mamare, respectiv pe 9 cadavre de caprine din rasa Alpină franceză și pentru 12 cadavre de caprine din rasa Saanen, au evidențiat următoarele aspecte:

La examinarea exterioră la 5 cadavre s-a putut observa emacierea acestora.

În urma examinării glandei mamare, în ceea ce privește aspectul exterior s-a constatat aspectul normal al culorii și al pielii regiunii. De asemenea, s-a observat atrofia pronunțată a glandei mamare și un raport scăzut al țesutului glandular, cu predominarea țesutului de susținere (fig. 10.6A).

La secționarea glandei mamare s-a constatat o rezistență crescută la tăiere, modificări ale structurii și indurarea parenchimului secretor, fibroză cu îngroșarea pereților

canalelor galactofore și prezența unor multiple mineralizări bine circumscrise în parenchimul mamar (fig. 10.6B și 10.6C).

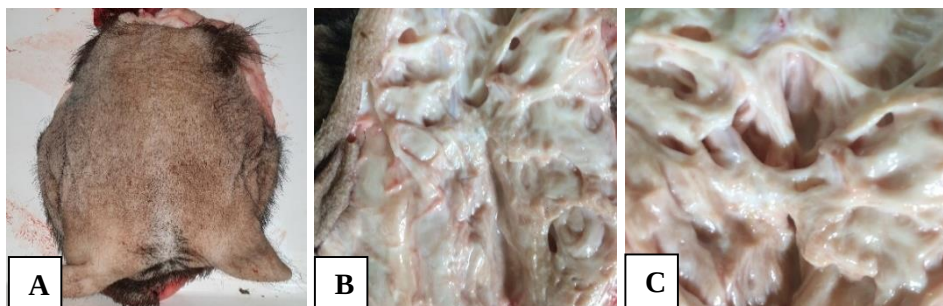


Figura 10.6 Glandă mamară de capră. A- aspect exterior, B -Secțiune longitudinală, C – Parenchim mamar fibrozat (original)

Figure 10.6 Goat mammary gland. A-exterior appearance, B-Longitudinal section, C - Parenchyma fibrosed breast (original)

d) Aspecte morfopatologice în localizarea respiratorie la caprinele adulte

Examele necropsice efectuate pe cadavrele a 18 caprine, respectiv pe 8 cadavre de caprine din rasa Alpină franceză și pe 10 cadavre de caprine din rasa Saanen, care prezentau manifestări clinice respiratorii au evidențiat următoarele aspecte:

La examinarea exterioară a cadavrelor s-a putut observa slăbirea pronunțată a la 8 dintre acestea.

Nu au fost înregistrate modificări la examenul țesutului conjunctiv subcutanat și al limfonodurilor externe.

La examenul general al cavității abdominale nu s-au înregistrat modificări caracteristice.

La deschiderea cutiei toracice, pulmonul avea un aspect dens, marmorat, de culoare roz-cenușie (fig. 10.7 și 10.8).

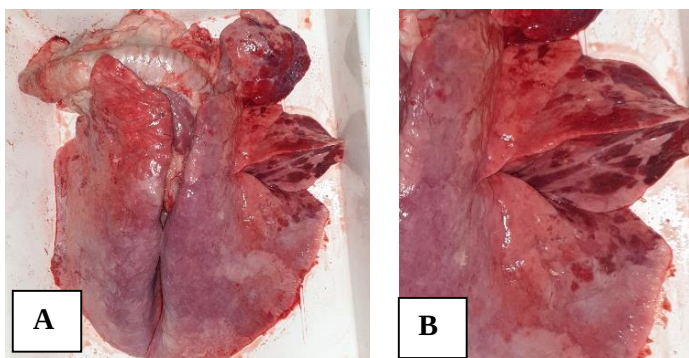


Figura 10.7 Pulmon. A- Hepatizație roșie, B - Detaliu (original)

Figure 10.7 Lungs. A – Red hepatization, B - Detail (original)

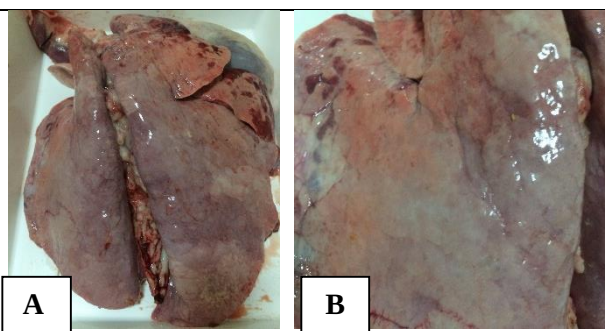


Figura 10.8 Pulmon de capră. – A Pneumonie, aspect roz-cenușiu, marmorat B) Detaliu (original)
 Figure 10.8 Goat lungs – A Pneumonia, marbled pink-gray look b) Detail (original)

La examenul necropsic s-au evidențiat leziuni de pneumonie lobară, în special în lobii apicali și cardiaci, hepatizație roșie în lobii apicali pulmonari (fig. 10.9 A), secreții spumoase traheale (fig. 10.9 B) și congestii ale limfonodurilor traheobronșice.

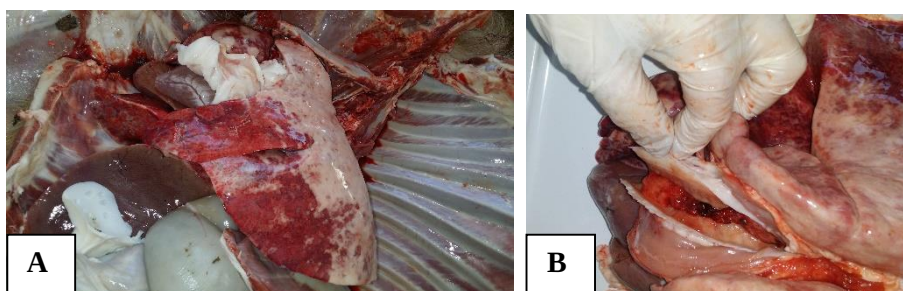


Figura 10.9 Pulmon. A - Hepatizație roșie, B - Trahee, prezența spumozităților. (original)
 Figure 10.9 Goat lungs. A Red hepatization, B - trachea, the presence of spumos. (original)

e) Alte aspecte morfoopatologice la caprinele adulte

Examenul macroscopic executat postmortem pe cadavrele caprinelor cu manifestări clinice respiratorii, articulare și mamare au pus în evidență următoarele aspecte:

La examenul necropsic efectuat pe cadavrele provenite de la tineretul caprin, la nivelul creierului s-au observat ușoare congestii la nivelul encefalului (fig. 10.10) și a foițelor meningeale, deși manifestarea clinică nu a fost prezentă.

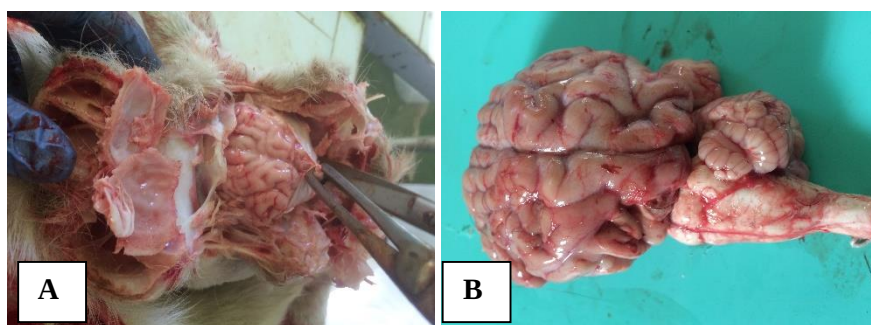


Figura 10.10 A - Congestia pronunțată a meningelui și a encefalului. B- Detaliu. (original)
 Figure 10.10 A- Considerable congestion of the meninges and the brain. B- Detail. (original)

La nivelul cerebelului s-a pus în evidență o congestie minoră și o ușoară decolorare a substanței cenușii cerebeloase (fig. 10.11).

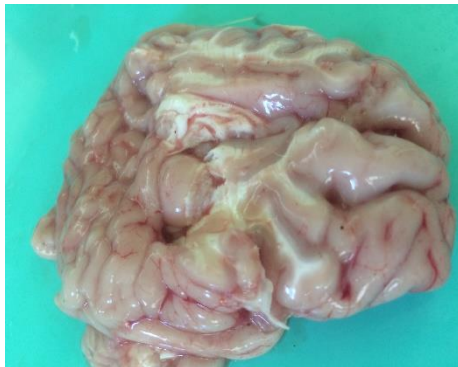


Figura 10.11 Cerebel Ușoară decolorare a substanței cenușii (original)

Figure 10.11 Cerebella Slight decoloration of gray matter (original)

Leziuni similare de congestie pronunțată a meningelui și de pneumonie interstițială au fost menționate și de Kaba și colaboratorii în studiul de caz privind forma neurologică a artritei encefalitei caprine la iezi (Kaba ș.a, 2011).

O gamă variată de leziuni ale sistemului nervos central au fost menționate la caprine cu forme respiratorii și de Polledo ș.a. în studiile efectuate în anii 2011 și în 2012 (Polledo ș.a., 2011 și 2012).

La examenul necropsic efectuat pentru cord, organele interne, masa gastrointestinală s-a observat un aspect normal, fără modificări macroscopice.

De asemenea, la organele din cavitatea toracică și abdominală nu s-au evidențiat leziuni macroscopice. S-a constatat aspectul normal al ficatului, rinichilor, și al splinei.

La nivelul uterului nu s-au observat modificări, s-a observat un aspect normal din punct de vedere al formei, volumului, consistenței și culorii.

10.1.3 Concluzii parțiale

În urma examenelor necropsice efectuate pe 65 de cadavre provenite de la 58 de caprine adulte și 7 de la tineretul caprin s-au evidențiat leziuni macroscopice tipice, menționate și în literatura de specialitate, determinate de prezența *virusului artritei encefalitei caprine*, cum ar fi:

1. La tineretul caprin cu vârste cuprinse între 6-9 luni s-au pus în evidență leziuni de pneumonie subacută însoțite de sindromul de slăbire progresivă. La nivelul creierului au fost puse în evidență ușoare congestii la nivelul encefalului și a foițelor meningeale, deși manifestarea clinică nu a fost prezentă.
2. La caprinele adulte cu vârste peste 2 ani s-au pus în evidență leziuni localizate la nivelul:

- Articulației carpometacarpine, leziuni de artrită și sinovită, cu mărirea în volum a articulației, fibrozări ale capsulei articulare, precum și zone de eroziune a cartilajului articular cu necroze.
 - Glandei mamare, leziuni de mastită indurativă, cu modificări de structură și indurări ale parenchimului secretor, fibroze cu îngroșarea pereților canalelor galactofore și prezența unor multiple mineralizări bine circumscrise în țesutul mamar.
 - Pulmonului, leziuni de pneumonie interstițială cronică, cu modificări în special în lobii apicali și cardiaci, hepatizație roșie, secreții spumoase traheale și congestii ale limfonodurilor traheobronșice.
3. Examenele necropsice executate pe cadavrele caprinelor adulte cu manifestări clinice respiratorii, articulare, mamare au pus în evidență la nivelul cerebelului o congestie minoră și o ușoară decolorare a substanței cenușii cerebeloase.

10.2 Aspecte histopatologice

Diagnosticul histopatologic se bazează pe leziunile tipice, dar non-patognomonice care apar la nivelul țesuturilor țintă ale virusului artritei encefalitei caprine: sistemul nervos central, pulmonul, glanda mamară și articulație.

În forma articulară leziunile care apar la nivelul țesuturilor, sunt majore, afectând articulația, tendoanele și bursa sinovială. La nivel de țesut sinovial s-a constatat hiperplazia celulelor sinoviale, cu precădere a vililor sinovialei, acumularea perivasculară a limfocitelor și a plasmocitelor, necroze, calcificări ale capsulei articulare și fibroze extinse ale țesuturilor periarticulare toate acestea fiind înconjurate de zone de infiltrație limfocitară intensă (Crawford ș.a., 1980).

Când este afectată glanda mamară, histologic se observă infiltrații mononucleare a stromei periductale care obliterează țesutul mamar normal.

În forma respiratorie, leziunea principală este pneumonia interstițială limfocitară, cu prezența unui infiltrat difuz al limfocitelor și macrofagelor în stroma pulmonară, cu hiperplazia musculaturii netede și fibroză în țesutul pulmonar (Blacklaws ș.a., 2010).

În forma neurologică leziunea primară din creier sau măduva spinării este encefalita non-supurativă, predominant periventriculară și paraventriculară, însoțită de demielinizare (Sigurdsson ș.a., 1957, Benavides ș.a., 2009).

10.2.1 Material și metodă

Recoltarea și prelucrarea materialului patologic

Probele utilizate pentru examenul histopatologic s-au prelevat imediat după sacrificare, respectând timpul de recoltare al acestora, ținându-se cont de procesele de autoliză și de liză care depreciază structura reală a țesutului. S-au recoltat probe din țesut pulmonar, limfonoduri pulmonare, creier și măduva spinării, glandă mamară, limfonoduri retromamare, uter, splină, ficat, rinichi, intestin subțire, cu ajutorul unui instrumentar bine ascuțit pentru a evita strivirea țesuturilor. Locul din care s-a recoltat proba, pentru țesuturile

modificate, a fost ales din zonele reprezentative, de la marginea leziunii, în așa fel încât fragmentul să cuprindă atât țesut modificat cât și normal. Dimensiunile prelevatului au fost de aproximativ 1 cm³, pentru ca fixatorul să poată pătrunde în toată proba.

După prelevare, prelucrarea probelor s-a realizat respectând următorul protocol de lucru, ce parcurge 5 etape: fixare, includere la parafină, secționare, colorare și examinare la microscop.

1. Fixarea. Piesele au fost puse în formol 10% tamponat pentru un timp de 24-48 ore. Fixarea histologică are scopul de a opri fenomenele vitale din țesuturile fixate în momentul respectiv, pentru a surprinde aspectele histopatologice în piesă, de a întări piesele în vederea operațiunilor ulterioare și de sterilizare a acestora. Fixarea a fost executată în flacoane de 30ml, în care volumul fixatorului a depășit de aproximativ 20 de ori pe cel al pieselor.

2. Includerea la parafină. Acest timp cuprinde 4 faze succesive, fazele I, II, III făcându-se automat cu ajutorul procesorului Leica.

I. Deshidratarea. Este necesară pentru eliminarea apei din țesuturi în vederea impregnării ulterioare în parafină. S-a executat prin trecerea pieselor prin trei băi cu alcool de concentrații progresiv crescânde: 80%, 90% și alcool absolut, timp de 2 ore pentru fiecare baie.

II. Clarificarea. A fost executată cu două băi de acetonă în vederea extragerii etanolului din piese, urmată de două băi cu xilen, timp de două ore pentru fiecare baie.

III. Impregnarea cu parafină. A fost executată în termostatul de includere în parafină la temperatura de 56°C, în trei băi de parafină lichidă, două ore în fiecare baie.

IV. Includerea propriu-zisă. A fost efectuată cu ajutorul unor forme care au permis includerea simultană a 10 piese.

3. Secționarea histologică s-a realizat cu ajutorul microtomului pentru parafină cu obținerea unor secțiuni de 5-6 μm.

4. Colorarea. Secțiunile au fost colorate prin metoda Masson tricromică (MTC) modificată cunoscută și sub denumirea de metoda Hematoxilină-Eozină-Albastru de metil (HEA). Reactivi, coloranți proprii metodei: Acid fosmolibdemic, Apă litinată, Albastru de metil, Eozină soluție apoasă 1%, Hematoxilină Mayer soluție apoasă.

Tehnica de colorare cuprune următoarele etape: deparafinare, rehidratare, colorare, deshidratare și clarificare.

S-a folosit această metodă pentru a pune în evidență, prin colorare selectivă: nucleii celulelor care se colorează în violet închis; citoplasma în roz, violet deschis; hematiile în cărămiziu; fibrele conjunctive în albastru nuanțat; substanța fundamentală în albastru deschis; țesutul muscular în roșu; hialinul în roz, roz-roșu, alteori ușor bazofil; amiloidul violet deschis; fibrinoidul în violet nuanțat și incluziile virale oxifile sau bazofile.

5. Vizualizarea. Pentru a putea stabili natura leziunilor, probele au fost montate cu balsam de Canada și apoi examinate la microscopul fonic, examinate utilizând un sistem de preluare și prelucrare a imaginilor Olympus, respectiv un microscop Olympus BX51 și programul de prelucrare de imagini Olympus Cell B.

Examenele histopatologice au fost efectuate în cadrul Laboratorului de Anatomie Patologică, din cadrul Facultății de Medicină Veterinară – Universitatea de Științe Agricole și de Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” din Iași.

10.2.2 Rezultate și discuții

a) Aspecte histopatologice pentru tineretul caprin în localizarea respiratorie

Pentru evidențierea leziunilor histologice prezente în forma de evoluție cu localizare pulmonară, s-au efectuat secțiuni la nivelul pulmonului.

La nivelul pulmonului, s-au observat leziuni de bronhopneumonie (fig. 10.12A) cu o proliferare abundentă a limfocitelor și histiocitelor printre structurile bronșice și organizarea lor perivasculară sub formă de „manșon” (fig. 10.12B)

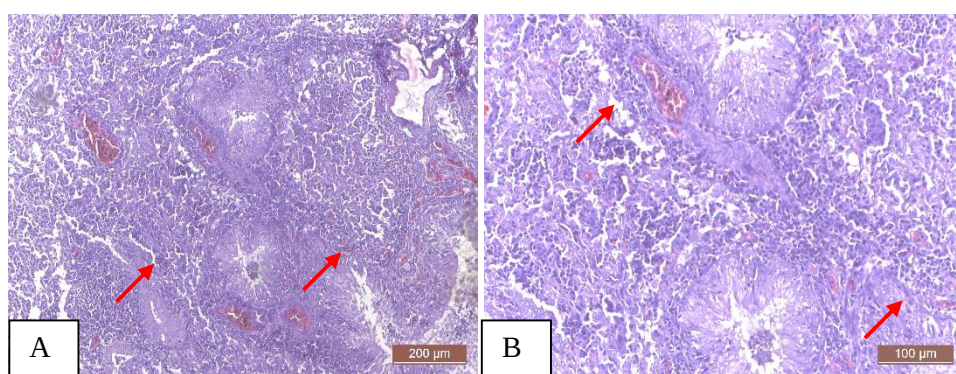


Figura 10.12 A - Bronhopneumonie limfohistiocitară, proliferări limfohistiocitare printre structurile bronșice. Col. MTC x 100. B - Organizarea lor perivasculară sub formă de „manșon” (săgeata), Col. MTC x 200 (original)

Figure 10.12 A - Lymphohistiocytic bronchopneumonia, lymphohistiocytic proliferation among bronchial structures. MTC stain x 100. B - Perivascular "sleeve" organization (arrow), MTC staining x 200 (original)

b) Aspecte histopatologice în localizarea articulară la caprinele adulte

Pentru evidențierea leziunilor histologice prezente în forma de evoluție cu localizare articulară, s-au efectuat secțiuni la nivelul capsulei articulare. La nivelul articulației s-au pus în evidență leziuni de artrită cronică limfohistiocitară și fibroasă.

S-au observat capsula articulară fibrozată și prezența de capilare sanguine de neoformație de (fig 10.13A), precum și necroze și calcificare metastatică a capsulei articulare (fig 10.13B).

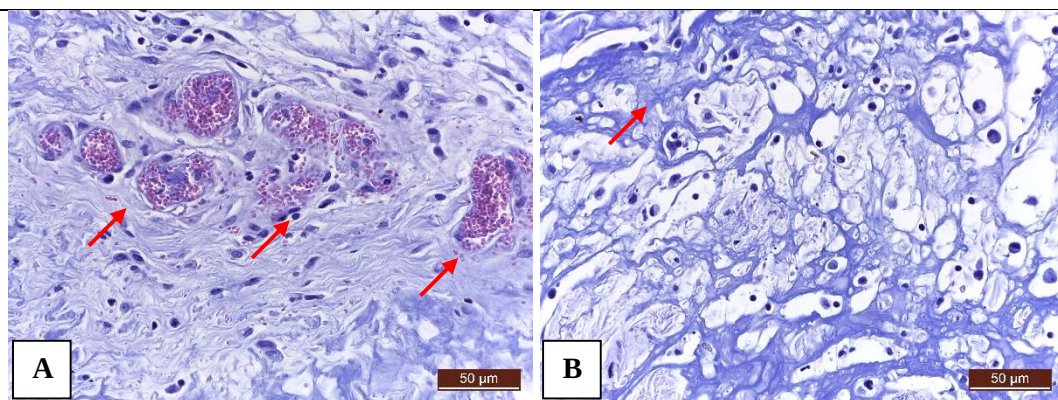


Figura 10.13 Artrită cronică limfohistiocitară şi fibroasă. A - Capsulă articulară fibrozată şi neoformaţie de capilare sanguine(săgeată), B- Necroze şi calcificare metastatică a capsulei articulare Coloraţie MTC x 400 (original)

Figure 10.13 Chronic lymphohistiocitary and fibrotic arthritis. A - Fibrotic joint capsule and blood capillary neoformation (arrow), B- Necrosis and metastatic calcification of the joint capsule. MTC staining x 400 (original)

De asemenea, s-a observat prezenţa unui infiltrat limfoplasmocitar şi macrofagic în ţesutul muscular periarticular (fig. 10.14).

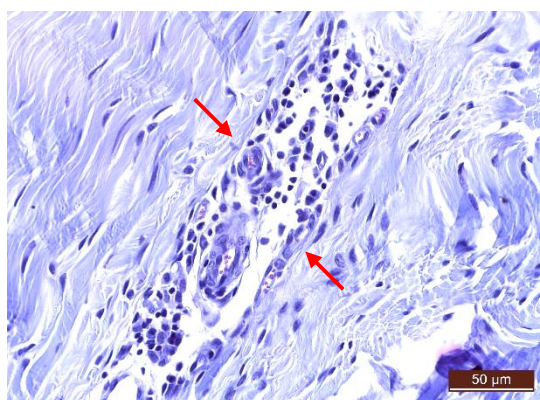


Figura 10.14. Infiltrat limfoplasmocitar şi macrofagic în ţesutul muscular periarticular, (săgeată). Coloraţie MTC x 400 (original)

Figure 10.14 Infiltrated lymphoplasmocytic and macrophage into periarticular muscle tissue, (arrow). MTC staining x 400 (original)

În figura 10.15A se poate observa o mineralizare/calcificare a capsulei articulare, cu prezenţa inflamaţiei limfohistiocitare şi fibroză extinsă a ţesuturilor periarticulare cu debut de mineralizare, artroză.

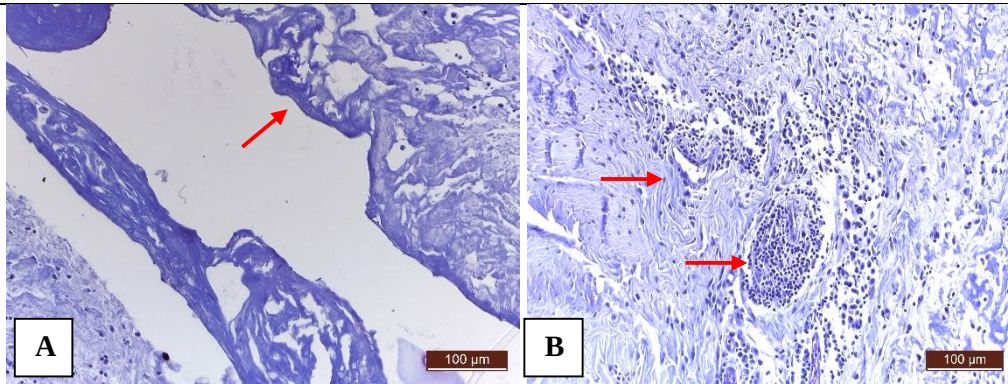


Figura 10.15 A- Mineralizare/calcificare a capsulei articulare (săgeată). B- Inflamație limfohistiocitară și fibroză extinsă a țesuturilor periarticulare, debut de artroză (săgeată). Colorație MTC x 200 (original)
Figure 10.15 A- Mineral / calcification of the joint capsule (arrow). B-Lymphohistiocytic inflammation and extended fibrosis of periarticular tissues and onset arthrosis (arrow). MTC staining x 200 (original)

Leziuni similare de artrită limfohistiocitară cu fibrozarea capsulei articulare, prezența de capilare sanguine de neoformație, necroze și calcificări au fost descrise și la caprinele din U.S.A. (Crawford ș.a., 1980; Zink ș.a., 1990), Norvegia (Sihvonen ș.a., 2006), Italia (Ravazzolo ș.a., 2006).

c) Aspecte histopatologice în localizarea mamară la caprinele adulte

Pentru evidențierea leziunilor histologice prezente în forma de evoluție cu localizare mamară, s-au efectuat secțiuni la nivelul glandei mamare și limfonodurilor retromamare. La nivelul glandei mamare s-au pus în evidență leziuni de mastită limfomonocitară. Se pot observa fibroze extinse, fibroblaste și fibre de collagen ce distorsionează și comprimă acinii mamari. Acinii mamari sunt încorsetați cu țesut fibros, deformați și prezintă epiteliul degenerat (fig 10.16A). De asemenea, interstițiul și acinii mamari sunt infiltrați cu limfocite și histiocite, cu prezența de mineralizări bine circumscrie (depozite mov) ale acinilor mamari și fibroze periacinare (fig 10.16B).

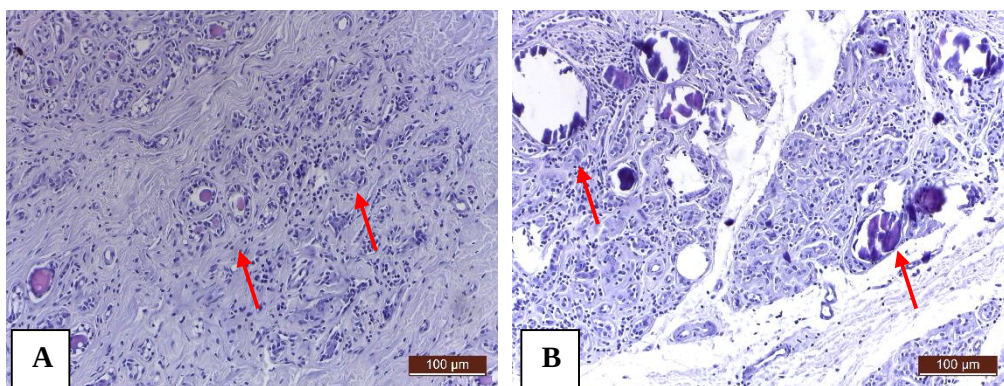


Figura 10.16 Mastită limfomonocitară. A- Fibroze extinse ce distorsionează și comprimă acinii mamari. B- Fibroze și mineralizări (depozite mov) ale acinilor mamari. Colorație MTC x 200 (original)
Figure 10.16 Lymphomonocytic mastitis. A-Extensive fibrosis that distorts and compresses the mammary acine. B- Fibroses and mineralizations (purple deposits) of mammary acines MTC staining x 200

Se pot observa zone de calcificare bine circumscrise și un infiltrat interstițial masiv cu monucleare (limfocite, plasmocite, histiocite) (fig. 10.17A) care alternează cu zone de calcificare difuză a acinilor mamari, cu prezența de infiltrat limfoplasmocitar interstițial (fig. 10.17B).

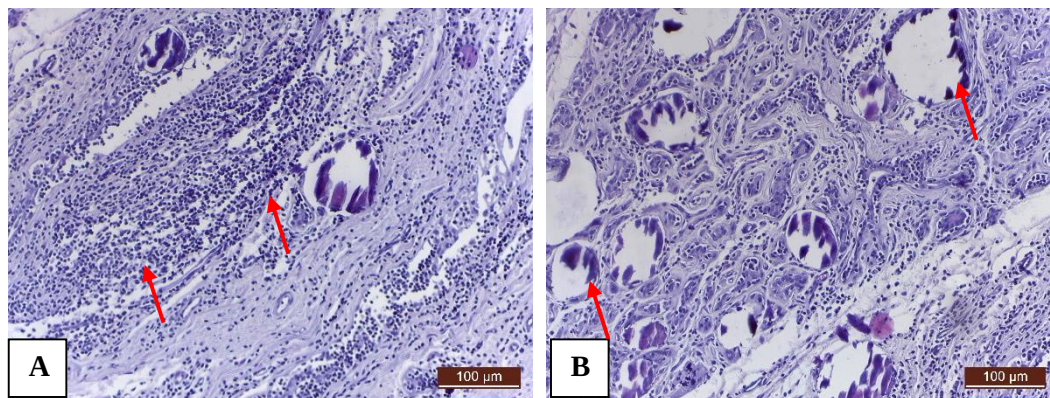


Figura 10.17 Mastită limfoplasmocitară. A – Infiltrat masiv de celule monocitare (săgeata). B - Calcificare difuză a acinilor mamari. Colorație MTC x 200 (original)

Figure 10.17 Lymphoplasmocytic mastitis. A – Massive infiltration of monocyte cells (arrow). B - Diffuse calcification of mammary acine. MTC staining x 200 (original)

În figura 10.18 se pot observa calcificări, precum și prezența unui detritus necrotic în lumenul acinilor mamari.

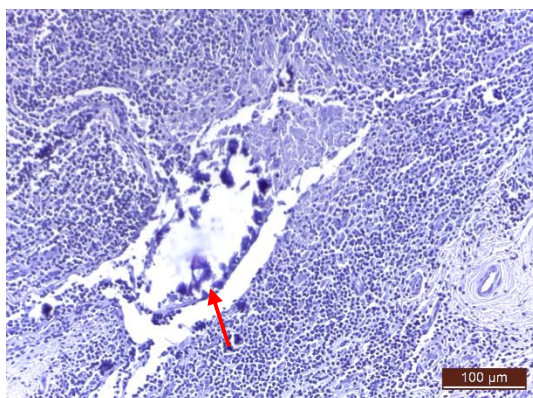


Figura 10.18 Mastită limfoplasmocitară, calcificări (mov), detritus necrotic. Colorație MTC x 200 (original)

Figure 10.18 Lymphoplasmocytic mastitis, calcifications (purple), necrotic detritus MTC staining x 200 (original)

La nivelul limfonodurilor retromamare s-au pus în evidență leziuni de limforeticulită hiperplazică în concordanță cu leziunile glandei mamare și zone de limfoclazie, ce alternează cu zone de hiperplazie (fig.10.19).

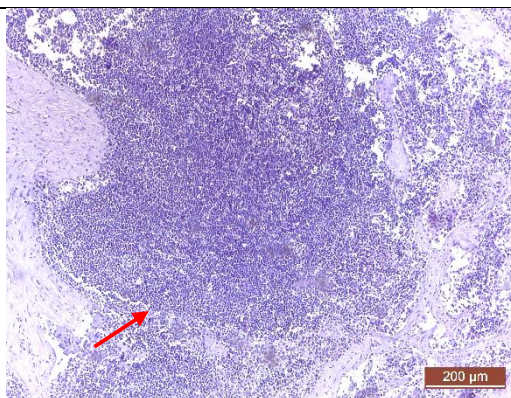


Figura 10.19 Limforeticită hiperplazică. Colorație MTC x 100 (original)

Figure 10.19 Hyperplasic lymphoreticulitis MTC staining x 10 (original)

De asemenea, s-a mai observat ștergerea arhitecturii limfonodului prin depuneri masive de amiloid pe stroma limfonodală, ce au sufocat foliculii limfoizi formați din aglomerări de limfocite și celule reticulare (fig. 10.20A și 10.20B).

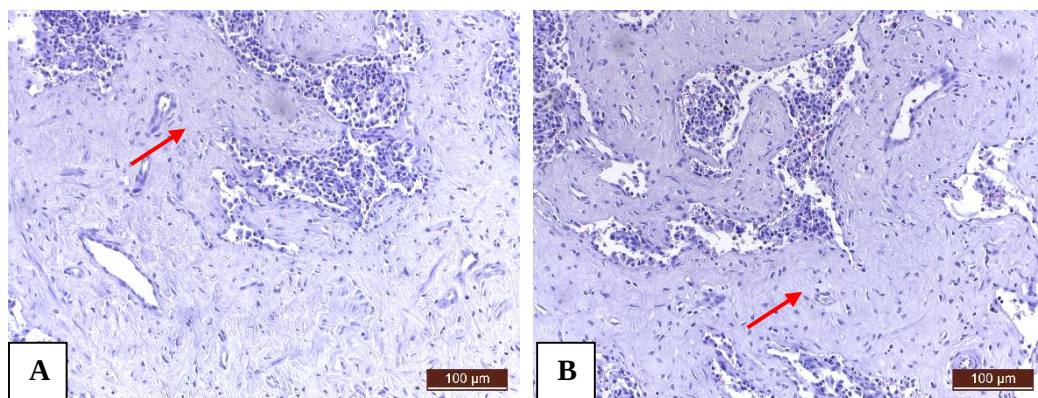


Figura 10.20 A - Ștergerea arhitecturii limfonodului. B- Amiloidoză severă. Mase de amiloid ce au condus la ștergerea structurii limfonodului. Colorație MTC x 200 (original)

Figure 10.20 A - Delete the lymph node architecture. B- Severe amyloidosis. Amyloid masses that led to the deleting of the lymph node structure MTC staining x 200 (original)

La nivelul glandei mamare s-au pus în evidență leziuni de mastită limfomonocitară cu prezența unui infiltrat interstițial masiv cu mononucleare (limfocite, plasmocite, histiocite) care alternează cu zone de calcificare difuză a acinilor mamari, precum și fibroze extinse ce distorsionează și comprimă acinii mamari.

d) Aspecte histopatologice în localizarea respiratorie la caprinele adulte

Pentru evidențierea leziunilor histologice prezente în forma de evoluție cu localizare pulmonară, la caprinele adulte, s-au efectuat secțiuni la nivelul pulmonului și a limfonodurilor traheobronșice.

La nivelul pulmonului s-au pus în evidență leziuni de pneumonie interstițială subacută (fig. 10.21A) și de pneumonie interstițială severă, cu proliferarea mezenchimului

pulmonar, remarcat prin îngroșarea septelor interalveolare (fig. 10.21B), zone de mineralizare (calcificare) pulmonară și zone extinse de fibroză interstițială

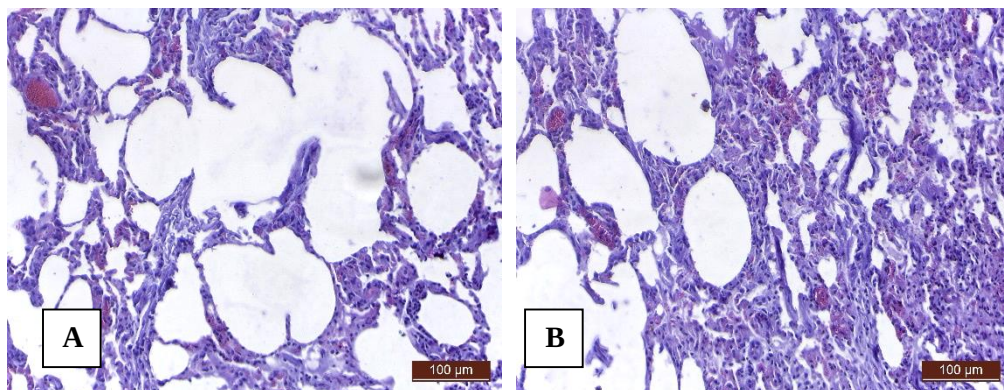


Figura 10.21 Pneumonie interstițială. A - subacută. B – severă. Colorație MTC x 200 (original)

Figure 10.21 Interstitial pneumonia. A - subacute. B - severe MTC staining x 200 (original)

La nivelul pulmonului s-au mai evidențiat leziuni de bronșită limfohistiocitară, remarcată prin proliferarea limfocitelor și histiocitelor printre structurile bronșice (fig. 10.22).

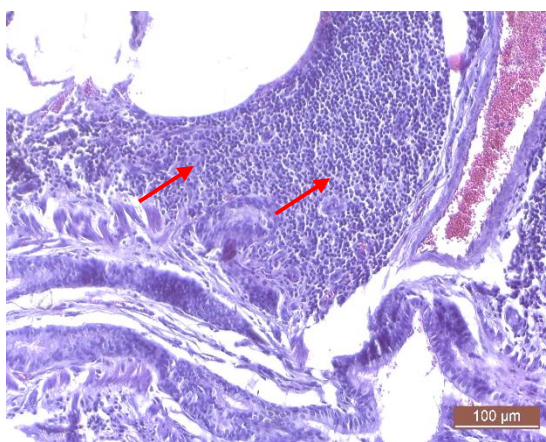


Figura 10.22 Bronșită limfohistiocitară cu prezența limfocitelor și histiocitelor printre structurile bronșice.

Colorație MTC x 200 (original)

Figure 10.22 -Lymphohistiocytic bronchitis with the presence of lymphocytes and histiocytes among the bronchial structures. MTC staining x 200 (original)

De asemenea, s-au mai evidențiat hiperplazia epitelului bronșic și prezența unui infiltrat limfohistiocitar peribronșic, uneori cu diferențierea fibroblastelor și hiperplazia peribronșică a fibrelor de collagen (fig 10.23A), precum și o calcificare a cartilajelor bronhice (fig. 10.23B).

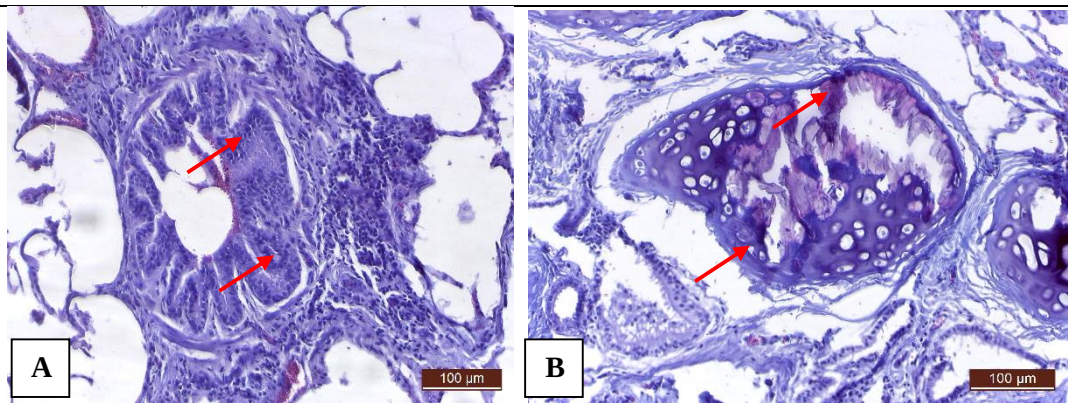


Figura 10.23 A - Hiperplazia epitelului bronșic și infiltrat limfohistiocitar peribronșic. B- Calcificare a cartilajelor bronhice. Colorație MTC x 200 (original)

Figure 10.23 A - Bronchial epithelial hyperplasia and peribronchial lymphohistiocytar infiltrate. B- Calcification of bronchial cartilage MTC staining x 200 (original)

S-au mai observat calcificări difuze pulmonare și emfizem pulmonar, alveole pulmonare cu pereții ruși (fig. 10.24A și 10.24B).

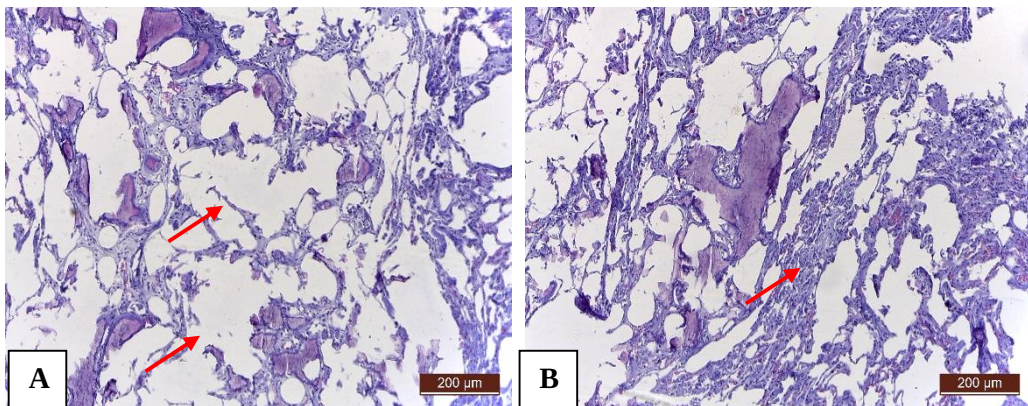


Figura 10.24 A - Emfizem pulmonar, alveole pulmonare cu pereții ruși. B- Calcificări difuze. Colorație MTC x 100 (original)

Figure 10.24 A - Pulmonary emphysema, pulmonary alveoli with ruptured walls. B- Diffuse calcifications. MTC staining x 100 (original)

La nivelul limfonodurilor traheobronșice s-a evidențiat leziunea de granulom cu o zonă de necroză centrală oxifilă și un perete organizat în trei zone:

- una internă reprezentată de celule gigante și celulele epeliode;
- o zonă mijlocie reprezentată de celulele mezenchimale proliferate, limfocite, histiocite și capilare de neoformare;
- o zonă externă reprezentată de țesut fibros neoformat (fig. 10.25).

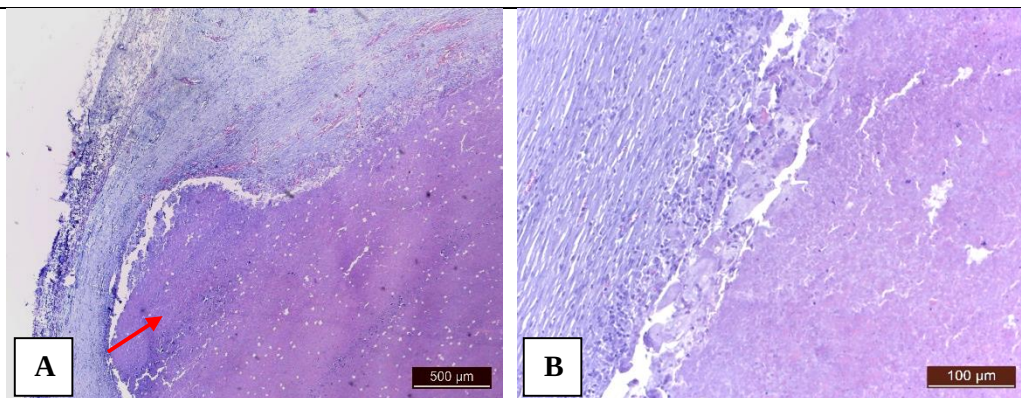


Figura 10.25 Limfonod traheo-bronșic de capră. A -Granulom cu o zonă de necroză centrală și un perete organizat în trei zone. Colorație MTC x 50. B – Detaliu Colorație MTC x 200. (original)

Figure 10.25 Traheobronchial goat lymph node. A-Granuloma with a zone of central necrosis and a wall organized in three zones. Colored MTC x 50. B - Detail. MTC staining x 200 (original)

La nivelul pulmonului s-au pus în evidență leziuni de pneumonie interstițială subacută și severă, leziuni de bronșită limfohistiocitară, cu prezența infiltratului limfohistiocitar în parenchimul pulmonar.

e) Alte leziuni histopatologice observate la caprinele adulte

În toate formele de evoluție cu localizări, pentru evidențierea leziunilor histologice s-au efectuat secțiuni ale creierului, măduvei spinării, limfonodurilor traheobronșice și retromamare, rinichilor, ficatului, intestinului subțire și uterului.

La nivelul encefalului, s-au pus în evidență prezența leziunilor de edem și de congestie a foitelor meningeale ale scoarței cerebrale (fig. 10.26A). Edemul cerebral accentuat se remarcă prin aspectul spongios dat de apariția spațiilor optice goale în jurul pericarionilor, precum și prin destinderea spațiilor Virchow-Robin. Neuronii sunt ușor hiperhidratați, tumefiați și cu semne discrete de degenerare (fig. 10.26B).

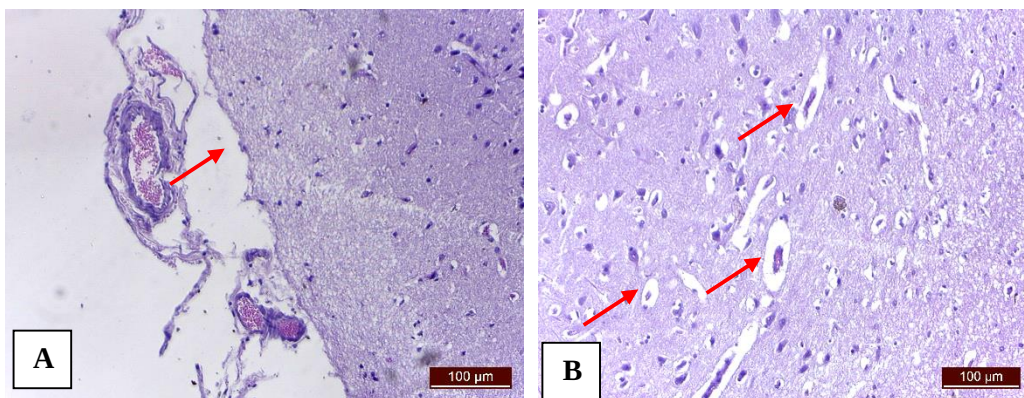


Figura 10.26 A - Edem și congestie a foitelor meningeale. B - Destinderea spațiilor Virchow-Robin. Colorație MTC x 200 (original)

Figure 10.26 A - Edema and congestion of meningeal leaves. B - The extension of Virchow-Robin spaces. (arrow) MTC staining x 200 (original)

S-au observat leziuni caracteristice de encefalită limfohistiocitară (fig. 10.27), cu o proliferare a astrocitelor, prezența celulelor inflamatorii, în special a limfocitelor și o dispunere a limfocitelor și a histiocitelor în jurul vaselor de sânge, sub forma unui ”manșon”.

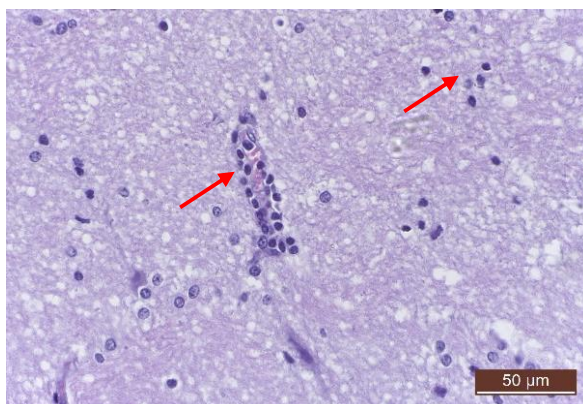


Figura 10.27. Encefalită limfohistiocitară cu prezența celulelor inflamatorii perivasculare și a nodulilor gliali (săgeată) Colorație MTC x 400 (original)

Figure 10.27 Lymphohistiocytic encephalitis with the presence of perivascular inflammatory cells and glial nodules (arrow) MTC staining x 400 (original)

Celulele gliale sunt aglomerate în cuiburi mici, ”noduli gliali”. Nu au fost observate zone de demielinizare la nivelul cerebelului, infiltrațiile limfohistiocitare inflamatorii fiind prezente doar la nivelul mezencefalului.

Leziuni de encefalomalacie (fig. 10.28) au fost observate la caprinele adulte, cu semne respiratorii, cu prezența fenomenului de satelitoză, a spațiilor goale din jurul neuronilor degenerați și a nodulilor gliali (fig. 10.28).

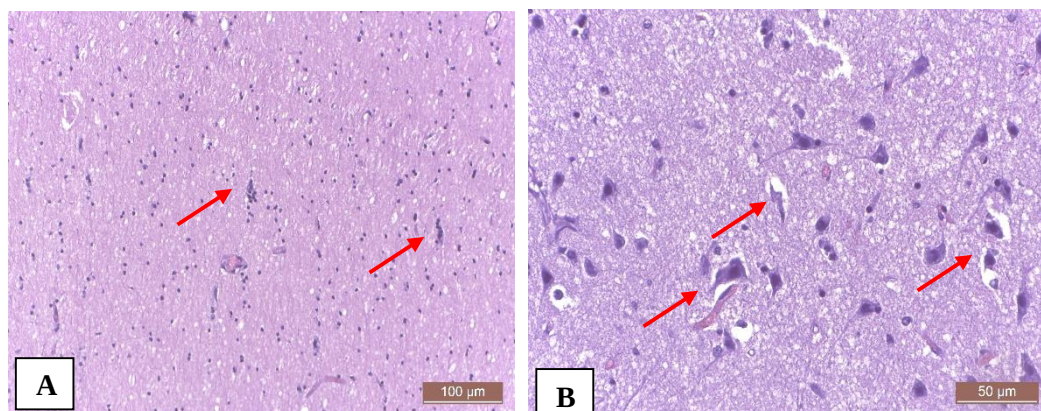


Figura 10.28 Encefalomalacie A– Noduli gliali (săgeata). Colorație MTC x 200. B - Prezența spațiilor goale din jurul neuronilor degenerați (săgeata). Colorație MTC x 400. (original)

Figure 10.28 Encephalomalacia. A – Glial nodules (arrow). MTC stain x 200 B. - The presence of empty spaces around degenerate neurons (arrow). MTC staining x 400 (original)

La nivel microscopic s-au putut observa la nivelul cerebelului leziuni neuronale reprezentate de o degenerare discretă a neuronilor Purkinje din stratul mijlociu al substanței cenușii cerebeloase (fig. 10.29).

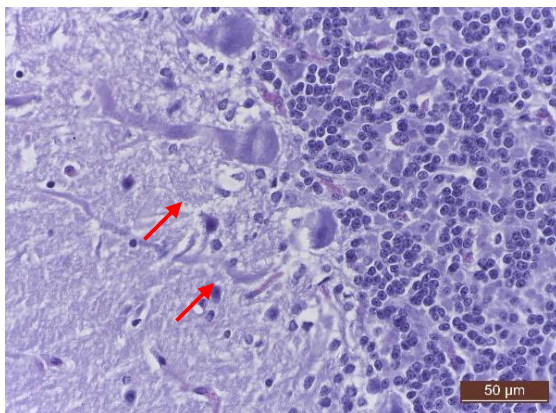


Figura 10.29 – Degenerare discretă a neuronilor Purkinje (săgeata). Col. MTC x 400 (original)

Figure 10.29 Discrete degeneration of Pukinje neurons (arrow). MTC staining x 400 (oroginal)

Examele histologice realizate pentru măduva spinării au relevat modificări minore, fiind prezente demielinizări izolate și neuroni devitalizați, fără nucleu, cu citoplasma vacuolizată, tumefiați (fig. 10.30).

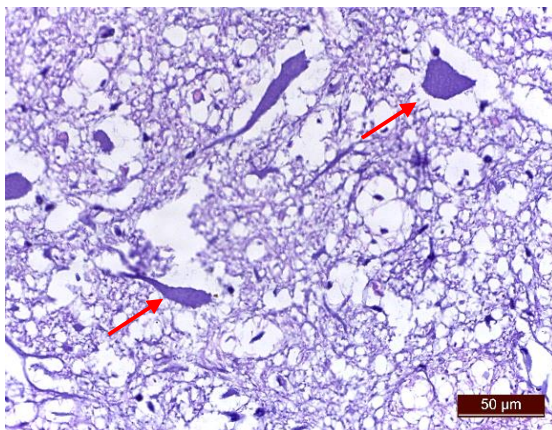


Figura 10.30 Măduva spinării. Demielinizări izolate și neuroni devitalizați (săgeată). Colorație MTC x 400 (original)

Figure 10.30 Spinal cord. Isolated demyelinzers and devitalized neurons (arrow). MTC staining x 400 (original)

Examele histologice realizate pentru rinichi au pus în evidență:

Nefrita interstițială limfohistiocitară (fig. 10.31A), cu inflamația subacută-cronică a țesutului renal, cu localizare subcapsulară, manifestată printr-o proliferare limfohistiocitară și fibroasă, care a condus la compresiunea glomerulilor și a tubilor uriniferi și cilindri hialini în tubii uriniferi (sindrom nefrotic cu proteinurie) (fig. 10.31B).

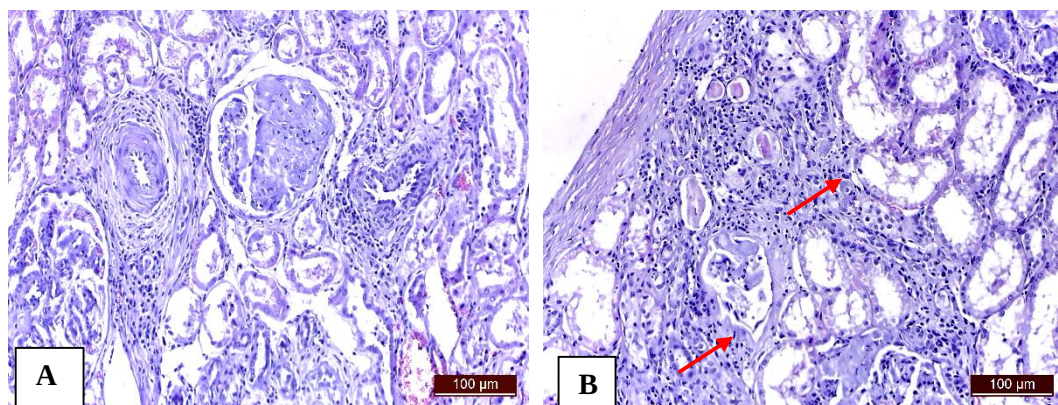


Figura 10.31 A – Nefrită interstițială limfohistiocitară. B - Inflamație interstițială accentuată, proliferare limfohistiocitară și fibroasă (săgeată). Colorație MTC x 200 (original)

Figure 10. 31 A - Interstitial lymphohistiocytic nephritis. B - Increased interstitial inflammation, lymphohistiocytic and fibrotic proliferation (arrow). MTC staining x 200 (original)

Se observă și o inflamație interstițială accentuată, tradusă prin proliferare limfohistiocitară și fibroasă, care comprimă grav elementele morfo-funcționale ale rinichiului, activarea celulelor mezangiale glomerulare, comprimarea capilarelor glomerulare (fig. 10.32A).

De asemenea, se observă amiloidoză glomerulară accentuată (fig.10.32B), spațiul intern al capsulei glomerulare fiind reprezentat de acumulări masive de amiloid, care comprimă capilarele glomerulare, afectând sever procesul de filtrare.

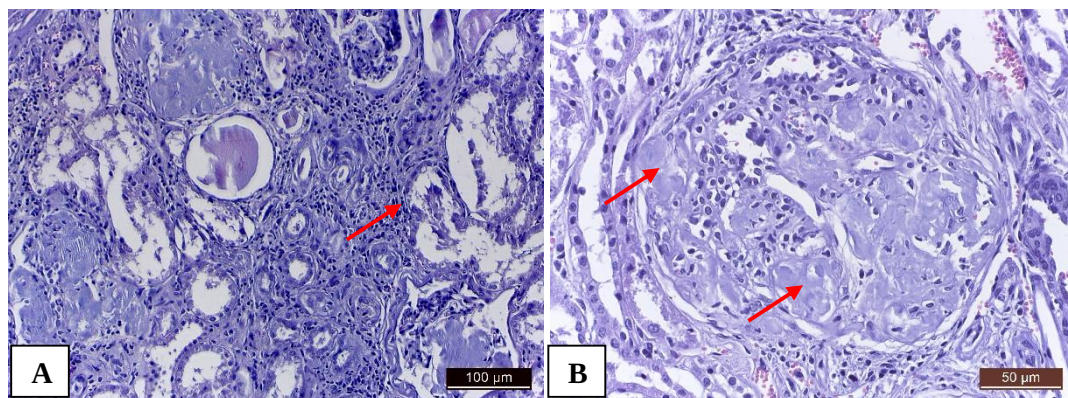


Figura 10.32 A - Inflamație interstițială accentuată, proliferare limfohistiocitară și fibroasă Colorație MTC x 200. B - Amiloidoză glomerulară accentuată. Colorație MTC x 400 (original)

Figure 10. 32 A - Increased interstitial inflammation, lymphohistiocytic and fibrotic proliferation MTC stain x 200. B - Increased glomerular amyloidosis. MTC staining x 200 (original)

Amiloidoza glomerulară, cu proteinurie masivă se remarcă prin cilindri hialini în lumenul tuburilor urinare (fig 10.33A).

În interstițiul renal se observă o proliferare accentuată a limfocitelor și histiocitelor, hiperplazia fibroblastelor și a fibrelor de collagen (fig. 10.33B).

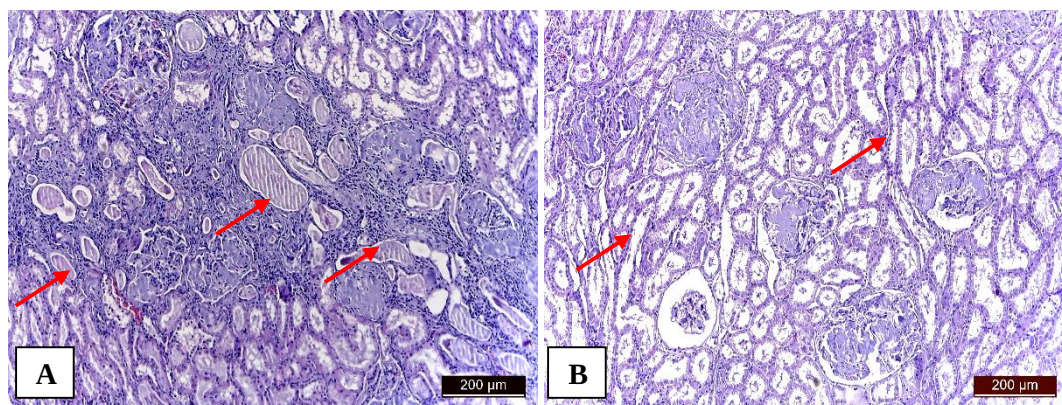


Figura 10.33 Amiloidoză glomerulară. A -Prezența cilindrilor hialini (săgeată). B - hiperplazia fibroblastelor și a fibrelor de collagen Colorație MTC x 100 (original)

Figure 10.33 Accentuated glomerular amyloidosis. A -Hyaline cylinders' appearance (arrow). B - fibroblast hyperplasia and collagen fibers MTC staining x 100 (original)

Amiloidoza tubulară și interstițială severă, cu compresiunea tubilor uriniferi și degenerarea epiteliilor tubulare duce în final la dispariția tubilor uriniferi (fig. 10.34A).

Tubii uriniferi sunt distorsionați, comprimați, au epiteliile dezintegrate, urmare a depunerilor de amiloid pe laminele bazale tubulare, pe membranele bazale ale capilarelor interstițiale și pe fibrele de collagen interstițiale (fig. 10.34B).

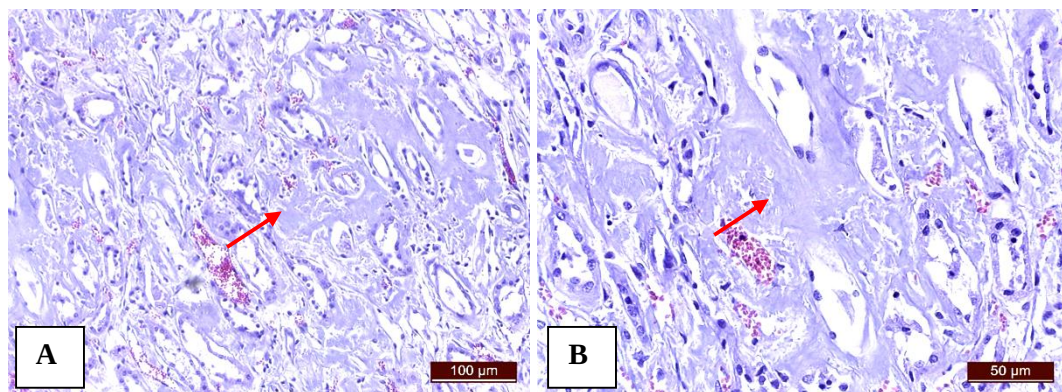


Figura 10.34. A - Amiloidoză tubulară și interstițială severă. Colorație MTC x 400. B –Detaliu. Colorație MTC x 200 (original)

Figure 10.34. A - Severe tubular and interstitial amyloidosis. MTC stain x 200. B – Detail. MTC staining x 400 (original)

În figura 10.35 se observă necroza epiteliilor tubulare și amiloidoză interstițială cu degenerarea tubilor uriniferi comprimați.

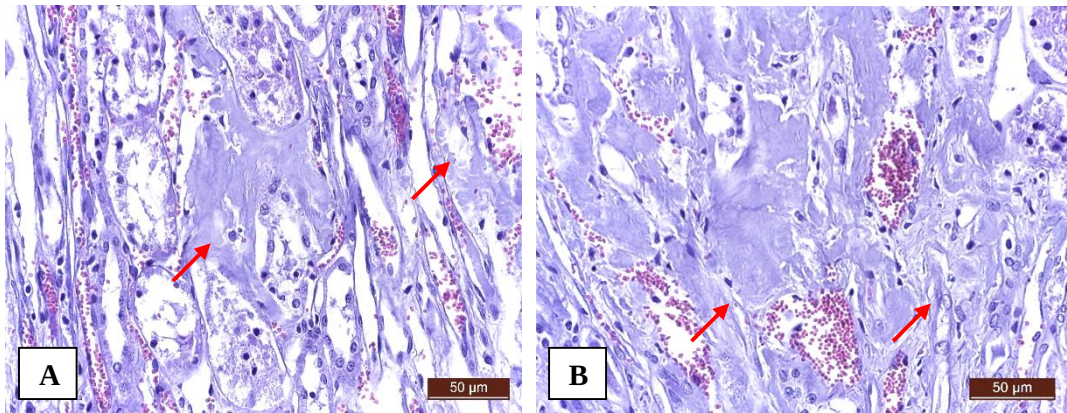


Figura 10.35. A - Necroza epiteliilor tubulare și amiloidoză interstițială (săgeată)). B- Degenerarea tubilor uriniferi comprimați. Colorație MTC x 400 (original)

Figure 10.35. A – Tubular epithelial necrosis and interstitial amyloidosis (arrow). B -Degeneration of compressed urine tubes. MTC staining x 400 (original)

Examenul histologic realizat pentru ficat a pus în evidență leziuni de amiloidoză hepatică remarcată prin mase de amiloid dispuse la periferia lobulului hepatic și în apropierea spațiul Kiernan (fig. 10.36A).

De asemenea, depunerea unor mase amorfe la periferia lobulilor hepatici, în spațiile Disse, ușor bazofile produc dezorganizarea cordoanelor Remack și compresiune asupra hepatocitelor (fig. 10.36B).

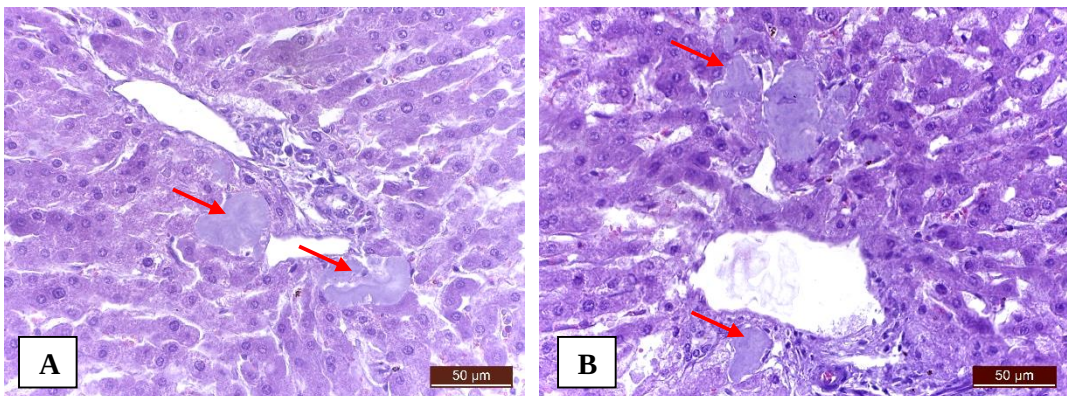


Figura 10.36. Amiloidoza hepatică. A - Mase de amiloid dispuse la periferia lobulului hepatic în apropierea spațiul Kiernan. B- în spațiile Disse. Colorație MTC x 400 (original)

Figure 10.36. Hepatic amyloidosis. A - Amyloid masses located at the periphery of the liver lobe near the Kiernan space. B- in the Disse spaces. MTC staining x 400 (original)

Examenul histologic realizat pentru splină a pus în evidență leziuni de amiloidoză splenică difuză severă (fig. 10.37A), amiloid depus pe fibrele de collagen și reticulină ale foliculilor limfoizi, dar și în pereții vaselor splenice.

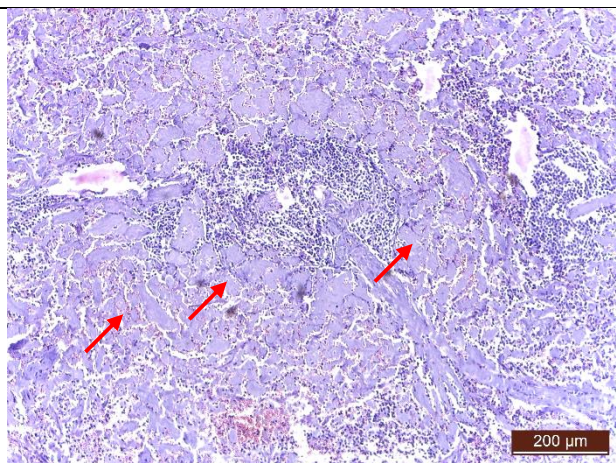


Figura 10.37. Amiloidoză splenică difuză severă. Colorație MTC x 100 (original)

Figure 10.37. Severe diffuse splenic amyloidosis. MTC staining x 100 (original)

Depozitele de amiloid comprimă foliculii limfoizi, producând limfoclazie severă (fig. 10.38A).

Se observă amiloidoză difuză, atât a foliculilor limfoizi cât și a venei centrofoliculare, mase mari de amiloid, sub forma unor blocuri amorfe ce înlocuiesc structurile splenice normale (fig. 10.38B).

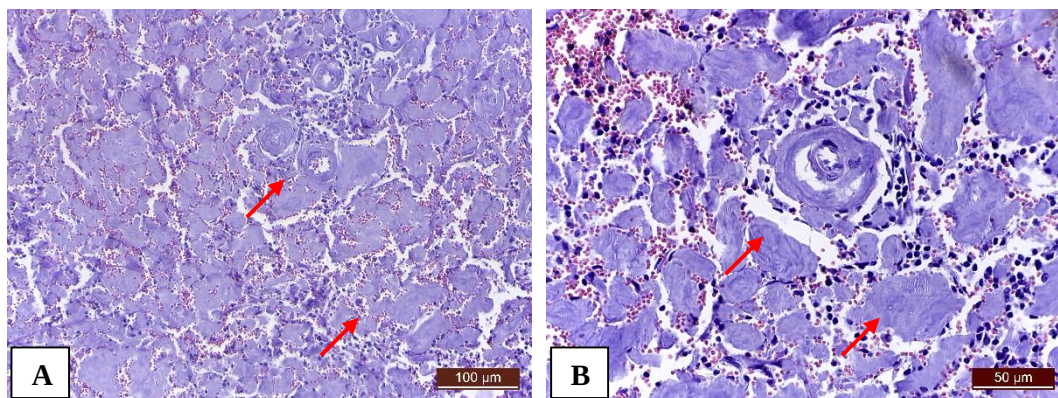


Figura 10.38. Amiloidoză splenică difuză severă. A -Depozitele de amiloid comprimă foliculii limfoizi.

Colorație MTC x 200. B- Mase mari de amiloid. Colorație MTC x 400 (original)

Figure 10.38. Severe diffuse splenic amyloidosis. A-Amyloid deposits compress lymphoid follicles. MTC stain x 200. B- Large masses of amyloid. MTC staining x 400 (original)

Examenul histologic realizat pentru intestinul subțire a pus în evidență leziuni de jejunită limfoplasmocitară (fig. 10.39), cu infiltrarea epiteliului jejunal și al corionului cu limfocite și plasmocite. Se remarcă rare eozinocite infiltrate printre enterocite.

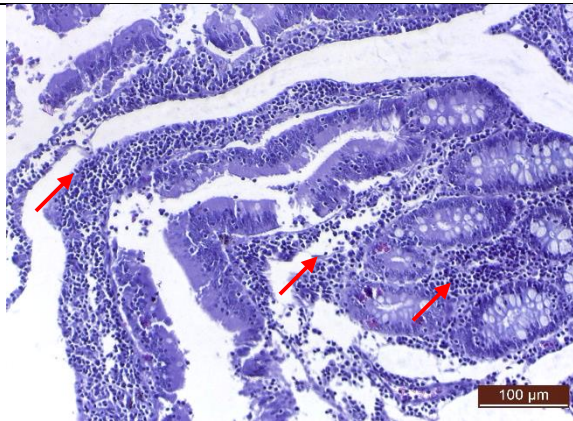


Figura 10.39 Jejunită limfoplasmocitară severă cu infiltrat din limfocite și plasmocite. Colorație MTC x 200 (original)

Figure 10.39 Severe lymphoplasmacytosis jejunum infiltrating lymphocytes and plasma cells. MTC staining x 200 (original)

Vârful vilozităților intestinale este necrozat, remarcându-se doar umbre din structurile specifice. Apare infiltrat masiv cu limfocite la baza vilozităților (fig. 10.40A). se mai observă necroza parțială a vilozităților intestinale, infiltrat limfoplasmocitar sever al epiteliului și corionului mucoasei jejunale (fig. 10.40B).

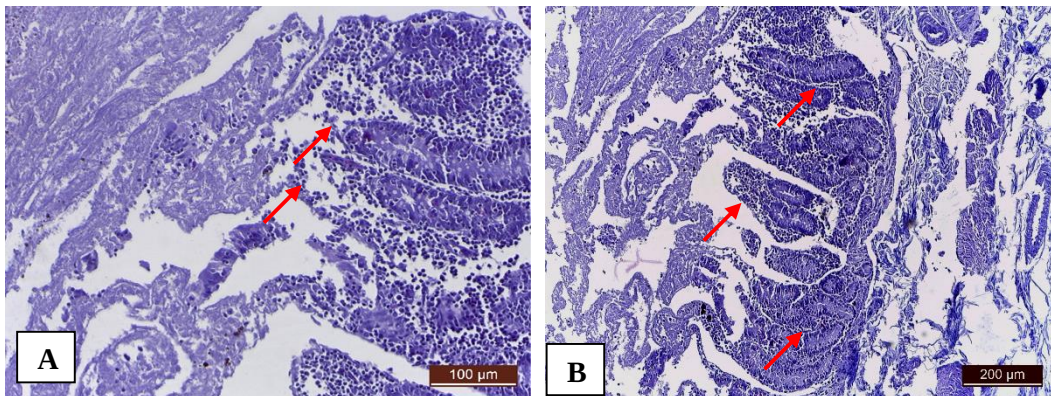


Figura 10.40 Jejunită limfoplasmocitară. A - Infiltrat masiv cu limfocite la baza vilozităților. Colorație MTC x 200. B - Infiltrat limfoplasmocitar sever al epiteliului și corionului mucoasei jejunale. Colorație MTC x 100 (original)

Figure 10.40 Severe lymphoplasmacytosis jejunum. A - Massive infiltration with lymphocytes at the base of the villites. MTC stain x 200. B - Severe lympho plasmacytotic infiltration of the epithelium and the junction of the jejunal mucosa. MTC staining x 100 (original)

La nivelul uterului s-au observat leziuni de endometrită proliferativă și fibroză accentuată a corionului (fig. 10.41).

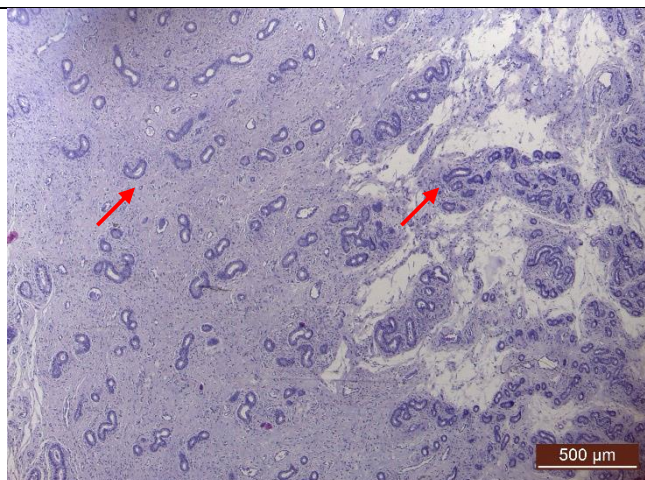


Figura 10.41. Endometrită proliferativă și fibroză accentuată a corionului. Colorație MTC x 50 (original)
Figure 10.41. Proliferative endometritis and deepened fibrosis of the chorion. MTC staining x 50 (original)

De asemenea, s-au remarcat și leziuni de endometrită hiperpalzică, proliferarea glandelor endometriale și hiperplazie a țesutului conjunctiv la acest nivel (fig. 10.42A) precum și un infiltrat limfohistiocitar accentuat, mai ales, subepitelial (fig. 10.42B).

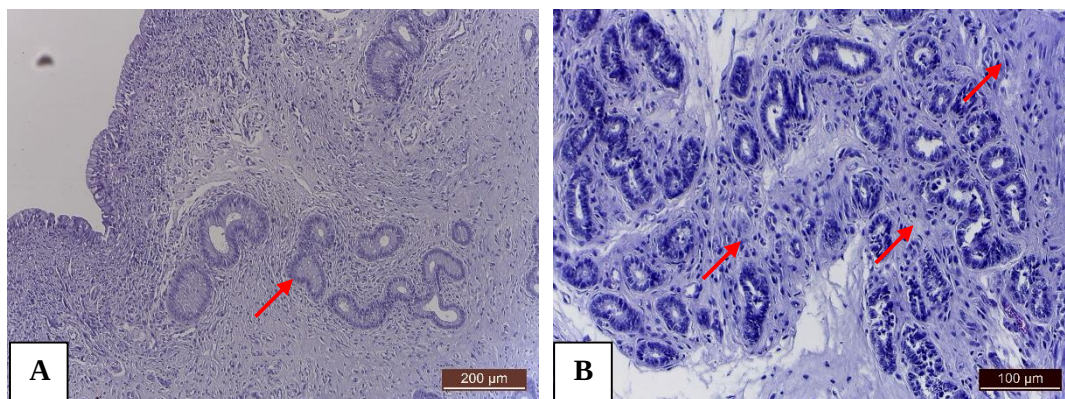


Figura 10.42 A - Endometrită hiperplazică – proliferarea glandelor endometriale Colorație MTC x 100.

B - Infiltrat limfohistiocitar (săgeată). Colorație MTC x 200 (original)

Figure 10.42 A - Hyperplasic endometritis - endometrial gland proliferation MTC stain x 100.

B - Lymphohistiocitary infiltration (arrow). MTC staining x 200 (original)

10.2.3 Concluzii parțiale

1. În urma cercetărilor privind aspectele histopatologice în cazul a 39 de probe recoltate, s-a pus în evidență că principala modificare este dată de prezența infiltratului din țesuturi, format din celulele mononucleare, limfocite, monocite din sânge sau celule proliferative din țesuturi, suprapunându-se cu apariția modificărilor specifice, cu distrugerea arhitecturii și funcției normale a acestora.

2. La nivelul articulației s-au pus în evidență leziuni de artrită cronică limfohistiocitară și fibroasă, cu fibrozarea capsulei articulare, prezența de capilare sanguine de neoformație, precum și necroze și calcificări metastatice ale capsulei articulare și fibroze extinse ale țesuturilor periarticulare, cu debut de mineralizare.

3. La nivelul pulmonului au fost puse în evidență leziuni de pneumonie interstițială subacută, de pneumonie interstițială severă, cu proliferarea mezenchimului pulmonar, îngroșarea septelor interalveolare, zone de mineralizare (calcificare) pulmonară și zone extinse de fibroză.

4. La nivelul glandei mamare s-au pus în evidență leziuni de mastită interstițială, cu prezența unui infiltrat interstițial masiv cu monucleare (limfocite, plasmocite, histiocite) care alternează cu zone de calcificare difuză a acinilor mamari, precum și fibroze extinse ce distorsionează și comprimă acinii mamari.

5. Leziunile localizate la nivelul creierului se caracterizează prin prezența de agregatele perivascularare formate din celule inflamatorii.

CAPITOLUL 11. CERCETĂRI PRIVIND CONFIRMAREA DIAGNOSTICULUI ARTRITEI ENCEFALITEI CAPRINE

CHAPTER 11. RESERCH CONCERNING THE CONFIRMATION OF CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS DIAGNOSIS

11.1 Cercetări privind diagnosticul artritei encefalitei caprine, de detecție a acidului nucleic, prin metoda nested PCR

Până în prezent, pentru a detecta prezența provirusului CAEV, au fost utilizate diferite tehnici de diagnostic molecular. Tehnicile bazate pe PCR variază în funcție de țintele lor. ARN-lui viral poate fi detectat cu ajutorul tehnicii revers transcripția PCR, iar ADN-ului proviral poate fi detectat cu ajutorul: double-nested PCR, semi-nested PCR, nested PCR, real-time PCR și TaqMan- qPCR.

Scopul acestor cercetări a fost reprezentat de identificarea și caracterizarea prin metode de biologie moleculară a *virusului artritei encefalitei caprine* implicat în etiologia bolii.

11.1.1 Material și metodă

Pregătirea probelor, a extracțiilor ADN-lui, a reactivilor pentru PCR, dar și efectuarea propriu-zisă a reacțiilor au fost realizate în cadrul Laboratorului de Serologie și de Biologie Moleculară, din cadrul Facultății de Medicină Veterinară – Universitatea de Științe Agricole și de Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” din Iași.

Pregătirea probelor

În vederea efectuării detecției acidului nucleic prin metoda nested PCR (nPCR), au fost selectate un număr de 100 de probe de la caprine testate serologic pentru depistarea anticorpilor CAEV, 30 de probe de la animale seropozitive și 70 de probe de la animale seronegative la testul AGID.

Probele de sânge s-au recoltat septic din vena jugulară în vacutainere HELP-VAC K3EDTA de 3ml și au fost centrifugate 20 minute la 15000 rpm pentru a exprima leucocitele din sânge (WBC) necesare pentru etapa următoare (fig. 11.1A). Leucocitele exprimate s-au recoltat în microtuburi de 1,5ml, care au fost individualizate și apoi depozitate la -15 -30°C până la utilizare (fig. 11.1B).

Extracția ADN-ului proviral

ADN-ul proviral a fost extras din cele 100 de probe cu ajutorul QIAamp DNA mini (50) 51304, respectând instrucțiunile producătorului.

Extracția ADN-lui proviral s-a efectuat în următoarele etape:

1: Prima etapă a constat în prepararea lizatului. S-a folosit următorul protocolul de preparare a lizatului pentru 200 μl probă: S-au repartizat 200 μl de probă într-un tub

Eppendorf steril de 1,5 ml. Pentru preliza probelor s-au adăugat 20 μ l Proteinază K și 200 μ l de Buffer AL, s-au omogenizat prin vortexare timp de 15 secunde apoi s-au incubat la 56° C timp de 10 minute. S-au adăugat 200 μ l etanol 96-100% în microtub și s-a omogenizat prin vortexare timp de 15 secunde apoi s-a incubat lizatul timp de 5 minute la temperatura camerei.

2: A doua etapă, a constat în atașarea ADN-ului de membrana de siliciu. Pentru fiecare probă, în tuburi colectoare de 2ml s-a așezat o coloană DNeasy Mini Spin, s-a adăugat lizatul. S-a centrifugat coloana la 14.000 rpm timp de 1 minut.

3: Spălarea și uscarea membranei de siliciu. Peste coloanele DNeasy Mini Spin s-a adăugat 500 μ l tampon de spălare (AW1) cu etanol și s-au centrifugat la 14.000 rpm timp de 1 minut. S-a îndepărtat tubul de colectare și s-a plasat coloana de centrifugat în alt tub de 2 ml. S-a repetat etapa de spălare încă o dată cu 500 μ l tampon de spălare (AW2) și s-a centrifugat la 14.000 rpm timp de 3 minute. Coloana DNeasy Mini Spin s-a centrifugat la viteză maximă 1 minut pentru îndepărtarea reziduurilor tamponului de spălare (AW2).

4: Eluția ADN-lui. S-au așezat coloanele de centrifugat într-un tub de 1,5 ml peste care s-au adăugat 200 μ L Buffer AE și s-au incubat la temperatura camerei timp de 5 minute. S-a centrifugat la viteză de 14.000 rpm timp de 1 minut pentru eluarea acizilor nucleici, care apar ca un precipitat alb (fig. 11.1C).

Tubul de recuperare conține 50 μ l de ADN proviral. Toate probele de ADN extrase au fost păstrate -20 ° C până la utilizare.

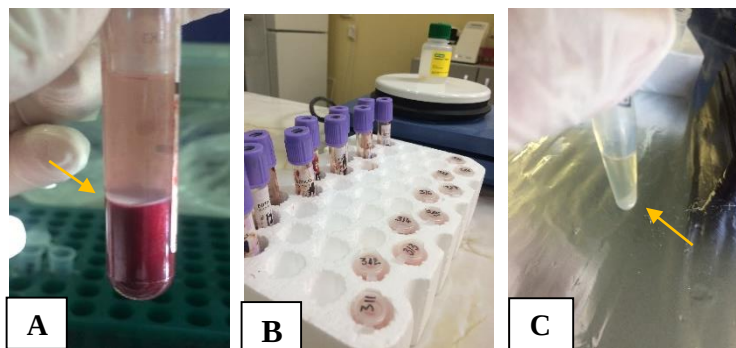


Figura 11.1 A - WBC (săgeata). B – Repartizarea WBC în microtuburi 1,5ml. C – Aspectul acizilor nucleici obținuți (*original*)

Figure 11.1 A - White cell fraction (arrow). B - WBC distribution in 1,5ml microtubes. C - Appearance of the nucleic acids obtained (*original*)

Cuantificarea ADN proviral

Cuantificarea ADN-lui extras s-a realizat cu ajutorul spectrofotometrului Eppendorf Biophotometer Plus (PSC 555) care permite o măsurare rapidă și eficientă a cantității de ADN din proba analizată. Pentru fiecare probă citirea s-a realizat folosind o diluție de 5 μ l probă, 85 μ l ddH₂O și 10 μ l NaOH 2M, puritatea acizilor nucleici fiind apreciată conform raportului dintre lungimile de undă As 260/280. Pentru a evita erorile de citire s-a utilizat un etalon constituit din 90 μ l ddH₂O și 10 μ l NaOH 2M.

Alegerea primerilor

Datorită heterogenității genomului ARN viral valoarea diagnosticului depinde în mare măsură atât de probele folosite pentru detectarea CAEV, cât și de proiectarea oligonucleotidelor.

Alegerea metodei PCR și amplificarea s-au făcut în conformitate cu descrierile de către L'Homme ș.a. (2011), Modolo ș.a. (2009) și Panneum ș.a. (2017), în care primerii proiectați corespund secvențelor cele mai conservate ale regiunii genei *gag* ale genomului SRLVs. Oligonucleotidele folosite au fost obținute din gena *gag* care codifică proteinele capsidice (p28, p350 localizate la pozițiile 962 și 1582 ale CAEV-co) (Saltarelli ș.a., 1990).

Pentru a crește probabilitatea de amplificare a fragmentelor virale vizate în reacțiile PCR s-au utilizat șase primeri CAEV, patru primeri în prima etapă care au amplificat fragmente de 1191 pb și doi primeri în a doua etapă care au amplificat fragmente de 1327 pb (tabelul 11.1).

Tabelul 11.1/ Table 11.1

Primerii utilizați în etapele nPCR

Primers used in nPCR steps

Primeri	Secvențele nucleotidice (5' 3')	Localizare	Amplicon	Referințe
CAEVF0	AAC TGA AAC TTC GGG GAC GCC TG	304–326	1191 bp	Saltarelli ș.a. 1990; Modolo ș.a., 2009; Panneum ș.a., 2017.
CAEVR0	GTT ATC TCG TCC TAA TAC TTC TAC TGG	2092–2118	1191 bp	Saltarelli ș.a. 1990; Modolo ș.a., 2009; L'homme ș.a., 2011; Panneum ș.a., 2017.
CAEVF1	AAG GTA AGT GAC TCT GCT GTA CGC	334–357	1191 bp	Saltarelli ș.a. 1990; Modolo ș.a., 2009; L'homme ș.a., 2011; Panneum ș.a., 2017.
CAEVR1	TTT TTC TCC TTC TAC TAT TCC YCC	2000–2024	1191 bp	Saltarelli ș.a. 1990; Modolo ș.a., 2009; L'homme ș.a., 2011; Panneum ș.a., 2017.
CAEVF2	TGG TGA GTC TAG ATA GAG ACA TGG	513–536	1327 bp	Saltarelli ș.a. 1990; Modolo ș.a., 2009; L'homme ș.a., 2011; Panneum ș.a., 2017.
CAEVR2	GGA CGG CAC CAC ACG TAK CCC	1820–1840	1327 bp	Saltarelli ș.a. 1990; Modolo ș.a., 2009; L'homme ș.a., 2011; Panneum ș.a., 2017.

Pentru amplificarea ADN-lui proviral s-a folosit kitul ThermoScientific™ DreamTaq™ Green PCR Master Mix (2X). Mixul folosit este o soluție gata de utilizare care conține: ADN polimeraza DreamTaq, tampon Green DreamTaq, dATP, dCTP, dGTP și dTTP, câte 0,4 mM fiecare și 4 mM MgCl₂.

Reacțiile s-au efectuat într-un volum final de 50 μ l per probă preparat cu cantitățile specificate în tabelele 11.2 și 11.3:

Tabelul 11.2/Table 11.2

Mix de reacție cu un volum final de 50 μ l per probă folosit în prima rundă de amplificare
Reaction mix with a final volume of 50 μ l per sample used in the first round of amplification

Reagenți	Volum
DreamTaq Green PCR Master Mix	25 μ l
Forward primer F0	0,25 μ l
Revers primer R0	0,25 μ l
Forward primer F1	0,25 μ l
Revers primer R1	0,25 μ l
Probă ADN	1 μ l
Apă fără nucleaze	22 μ l

Tabelul 11.3/Table 11.3

Mix de reacție cu un volum final de 50 μ l per probă folosit în runda a doua de amplificare
Reaction mix with a final volume of 50 μ l per sample used in the second round of amplification

Reagenți	Volum
DreamTaq Green PCR Master Mix	25 μ l
Forward primer F2	0,25 μ l
Revers primer R2	0,25 μ l
Produs din prima reacție	1 μ l
Apă fără nucleaze	22,5 μ l

Amplificarea genică s-a realizat cu ajutorul aparatului MJ Mini^{MT} Gradient Thermal Cycler Bio Rad.

Condițiile generale pentru nPCR au fost după cum urmează: mixul pentru amplificare s-a supus unei denaturări la 94°C timp de 2 minute, aceasta fiind urmată de 35 de cicluri de amplificare, fiecare ciclu constituit dintr-o fază de denaturare timp de 1 minut la 94°C, o fază de aliniere la 55°C pentru 1 minut și faza de extensie la 72°C pentru 2 minute. La terminarea celor 35 de cicluri mixul este supus unei ultime faze de extensie finală timp de 10 min la 72°C. Pentru a verifica o posibilă contaminare a probelor, pentru fiecare reacție PCR s-a utilizat un control negativ, constituit din aceeași reagenți, cu excepția ADN-lui care a fost înlocuit cu ddH₂O. Aceleași condiții de amplificare au fost respectate pentru ambele reacții PCR.

La sfârșitul nPCR-ului, amplificonii obținuți au fost supuși migrării electroforetice pe gel de agaroză 1,8% în sistemul de electroforeză în gel de agaroză Sub-Cell[®] GT (1000mA, 400V) (fig. 11.2).

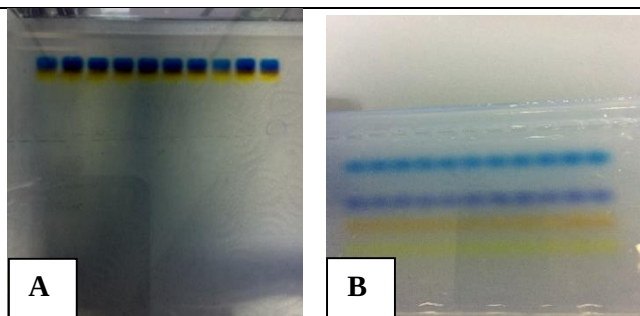


Figura 11.2 Electroforeza pe gel de agaroză 1,8%. A- Aspectul gelului după 10 minute . B – Aspectul gelului de agaroză la finalul migrării (original)

Figure 11.2 Agarose gel electrophoresis 1,8%. A- Appearance of the gel after 10 minutes. B - Final appearance after migration (original)

În gel s-au încărcat câte 15 μ l amplificat împreună cu 3 μ l de albastru de bromfenol. Amplificonii de ADN au fost evidențiați cu ajutorul bromurii de etidiu, prin vizualizarea gelului la transiluminator (la ultraviolete). Pentru fiecare migrare electroforetică s-a utilizat un marker cantitativ cu o greutate moleculară cunoscută (100bp ADN Ladder Invitrogen™ ThermoFischer, Romania) precum și controlul negativ, pentru a înlătura orice posibilitate de contaminare a mixului.

Imaginile au fost vizualizate cu ajutorul software-ului Vision Works®LS, atașat la analizatorul de imagini Gel Doc™ EQ ChemiDoc™.

Examenle de biologie moleculară au fost efectuate în cadrul Laboratorului de Biologie Moleculară, din cadrul Facultății de Medicină Veterinară – Universitatea de Științe Agricole și de Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” din Iași.

11.1.2 Rezultate și discuții

În urma citirii rezultatelor măsurării cantității de ADN extras s-a apreciat o variație a valorilor obținute cuprinsă între 0,9 μ g/ μ l și 13,9 μ g/ μ l, cu un raport minim al lungimii de undă As 260/280 de 0,65 (fig. 11.3).

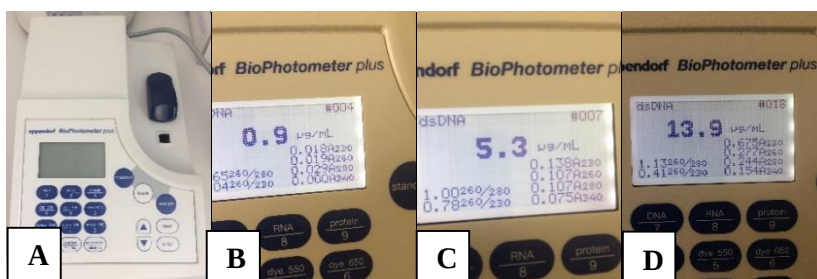


Figura 11.3 A - Spectrofotometru Eppendorf Biophotometer Plus (PSC 555). B – D Citiri ale măsurării cantității de ADN (original)

Figure 11.3 A- Eppendorf Biophotometer Plus Spectrophotometer (PSC 555). B - D Readings of the quantity of DNA (original)

Pentru a stabili un diagnostic cât mai concludent, probele luate în studiu au fost testate serologic cu kitul de diagnostic pentru anticorpi CAEV-p28 AGID și molecular prin metoda nested PCR, în care cele trei perechi de primerii folosiți au amplificat fragmente genomice reprezentând 90% din gena *gag* care codifică proteinele de capsidă virală p28.

Reacțiile produșilor nPCR pentru gena CAEV ne-au permis să obținem un amplificat specific și tipic, folosind în prima rundă de amplificare primerii CAEVF0, CAEVR0, CAEVF1 și CAEVR1. S-au amplificat fragmente genomice de 1192 nucleotide reprezentând 89% din gena *gag*. Un fragment de mărimea așteptată a fost amplificat pentru 37 din cele 100 de probe lucrate (fig. 11.4).

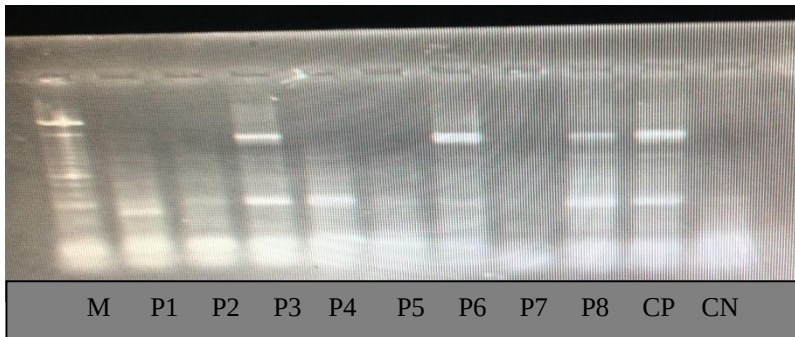


Figura 11.4 Fragmentul de 1192 bp amplificat din gena CAEV. M- martorul molecular cu greutatea de 100 bp, CN - Control negativ, CP – Control pozitiv, P3, P6, P7 – probe pozitive (original)

Figure 11.4 The 1192 bp amplified fragment from the CAEV gene. M – DNA leader of 100 bp, CN - negative control, CP - positive control: P3, P6, P7 - positive samples (original)

Produșii din prima etapă nPCR au fost amplificați folosind perechea de primeri CAEVF2 și CAEVR2. S-au amplificat fragmente genomice de 1327 de nucleotide (fig. 11.5).

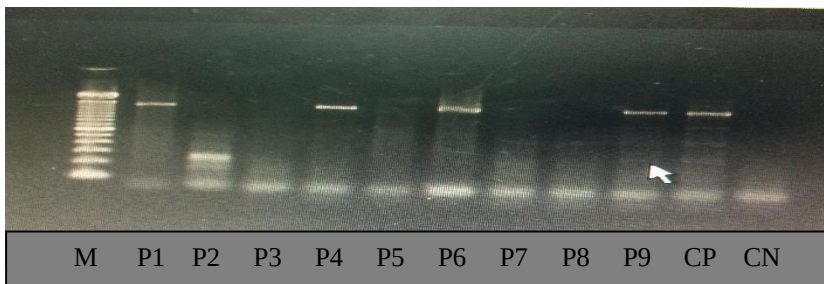


Figura 11.5 Fragmentul de 1327 bp amplificat din gena CAEV. M- martorul molecular cu greutatea de 100 bp, CN - Control negativ, CP – Control pozitiv, P1, P4, P6, P9 – probe pozitive (original)

Figure 11.5 The 1327 bp amplified fragment from the CAEV gene. M – DNA leader of 100 bp, CN - negative control, CP - positive control, P1, P4, P6, P9, P10 - positive samples (original)

În tabelul 11.4 și figura 11.6 sunt redate rezultatele obținute pentru detecția infecției CAEV la cele 100 de probe cu ajutorul testelor AGID și nested PCR.

Rezultate testelor AGID și nested PCR
The AGID and nested PCR test results

Test	nestedPCR (+)	nestedPCR (-)	Total
AGID (+)	26	4	30
AGID (-)	11	59	70
Total	37	63	100

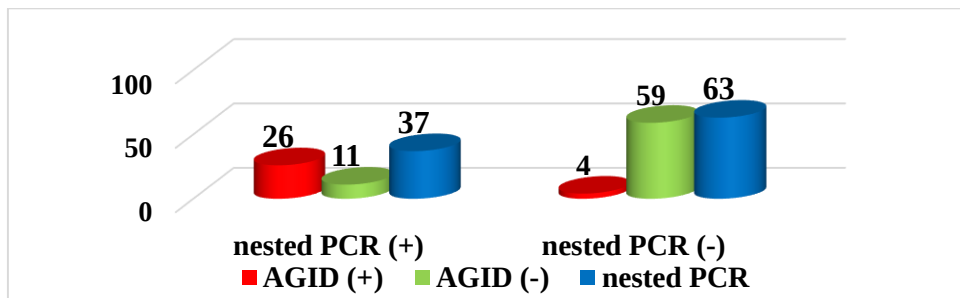


Figura 11.6 Rezultate testelor AGID și nested PCR

Figure 11.6 The AGID and nested PCR test results

În urma analizei rezultatelor obținute la testările prin cele două metode, serologică și moleculară, la cele 100 de probe care provin de la caprinele luate în studiu s-au constatat următoarele:

Din 30 de probe seropozitive testate prin nested PCR 86,67%, respectiv un număr de 26 de probe au obținut rezultate pozitive, iar 13,33%, respectiv un număr de 4 probe, au obținut rezultate negative. Rezultatele negative obținute pentru probele seropozitive pot fi datorate prezenței scăzute a virusului, doar 1×10^{-6} leucocite sunt infectate, precum și variației secvenței tulpinii virale.

Evaluarea celor 70 de probe seronegative prin nested PCR a indicat la 84,29%, respectiv un număr de 59 de probe, rezultate real negative, iar la 15,71%, respectiv la un număr de 11 probe rezultatele au fost fals negative. Prezența unui răspuns pozitiv la cele 11 animale aparent sănătoase, conform patogenzei, poate fi pus pe seama prezenței provirusului, înaintea apariției răspunsului imun, precum și pe seroconversia întârziată la unele animale. Atunci când testul AGID este folosit ca singură metodă pentru diagnosticarea CAEV, este observată o rată ridicată a rezultatelor fals negative (15,71%).

Astfel, luând în considerare metodele folosite pentru determinarea statusului infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine* la cele 100 de caprine, s-a constatat o specificitate mai mare a testelor AGID, respectiv au fost 63 de animale real negative și 7 fals pozitive, și o sensibilitate mai mare a metodei nested PCR, respectiv un număr de 37 de rezultate real pozitive.

În studiile care au comparat diagnosticul infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine* prin metode moleculare și serologice, rezultatele concordanței pozitive au variat de

la 69% la 94,9%, în timp ce dezacordul (concordanță negativă) a variat de la 88,5% la 100% (Shah ș.a., 2004, Herman ș.a., 2010, Brajon ș.a, 2012, Panneum ș.a., 2017).

Rezultatele obținute la testările prin cele două metode, serologice și moleculare, recomandă adoptarea unei metode multistep pentru detectarea prezenței *virusului artritei encefalitei caprine* cât mai precisă și precoce la animalele care ar putea fi o sursă importantă de infecție.

11.1.3 Concluzii parțiale

În urma cercetărilor privind confirmarea diagnosticului artritei encefalitei caprine, prin metoda nested PCR, un fragment de mărimea așteptată, de 1347 pb, a fost amplificat pentru 37 din cele 100 de probe analizate.

În ceea ce privește corelarea celor două metode, serologică și moleculară, la cele 100 de probe care provin de la caprinele luate în studiu s-au constatat următoarele:

1. Din 30 de probe seropozitive testate prin nested PCR 86,67%, respectiv un număr de 26 de probe au obținut rezultate pozitive, iar 13,33%, respectiv un număr de 4 probe, au obținut rezultate negative. Rezultatele negative obținute pentru probele seropozitive pot fi datorate prezenței scăzute a virusului, doar 1×10^{-6} leucocite sunt infectate, precum și variației secvenței tulpinii virale.
2. Evaluarea celor 70 de probe seronegative prin nested PCR a indicat la 84,29%, respectiv un număr de 59 de probe, rezultate negative, iar la 15,71%, respectiv la un număr de 11 probe rezultatele au fost pozitive. Prezența unui răspuns pozitiv la cele 11 animale aparent sănătoase, conform patogenezei, poate fi pus pe seama prezenței provirusului, înaintea apariției răspunsului imun, precum și pe seroconversia întârziată la unele animale.
3. Luând în considerare metodele folosite pentru determinarea statusului infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine* la cele 100 de caprine, s-a constatat o specificitate mai mare a testelor AGID, respectiv au fost 63 de animale real negative și 7 fals pozitive, și o sensibilitate mai mare a metodei nested PCR, respectiv un număr de 37 de rezultate real pozitive.
4. Rezultatelor obținute la testările prin cele două metode, serologică și moleculară, recomandă adoptarea unei metode multistep pentru detectarea prezenței virusului artritei caprine cât mai precisă și precoce la animalele care ar putea fi o sursă eficientă de infecție.

11.2 Caracterizarea tulpinilor virale identificate în focarele de artrită encefalită caprină

Ampliconii obținuți după efectuarea reacțiilor nPCR au fost analizați prin secvențierea realizată în cadrul Laboratorului CEMIA Cellular and Molecular Immunological (Grecia).

Secvențele de nucleotide obținute în urma amplificării virale și a secvențierii au corespuns genei *gag-pol*, responsabilă de codificarea proteinelor structurale, de capsidă virală (p28), de matrice (p19) și de nucleocapsidă (p16).

11.2.1 Material și metodă

Informațiile au fost prelucrate utilizând diferite soft-uri accesate on-line, traducerea virtuală fiind simulată cu programul *Geneious Prime 2019*.

Pentru obținerea unor secvențe de nucleotide cât mai complete a fost necesară traducerea catenei 3'-5' în sensul 5'-3'.

S-a realizat apoi suprapunerea celor două catene, iar fragmentele cele mai lungi obținute după curățare au fost aliniate cu ajutorul programului *Geneious Prime 2019* (fig 11.7) și comparate cu secvența genomică *gag* NC_001463.1 accesată din National Center of Biotechnology Information (NCBI).

Această etapă a făcut posibilă observarea eventualelor mutații ale nucleotidelor traduse prin modificarea aminocizilor din secvența genomică.

După alinierea nucleotidelor, s-a construit arborele filogenetic pe baza probabilității maxime utilizând programul amintit anterior.

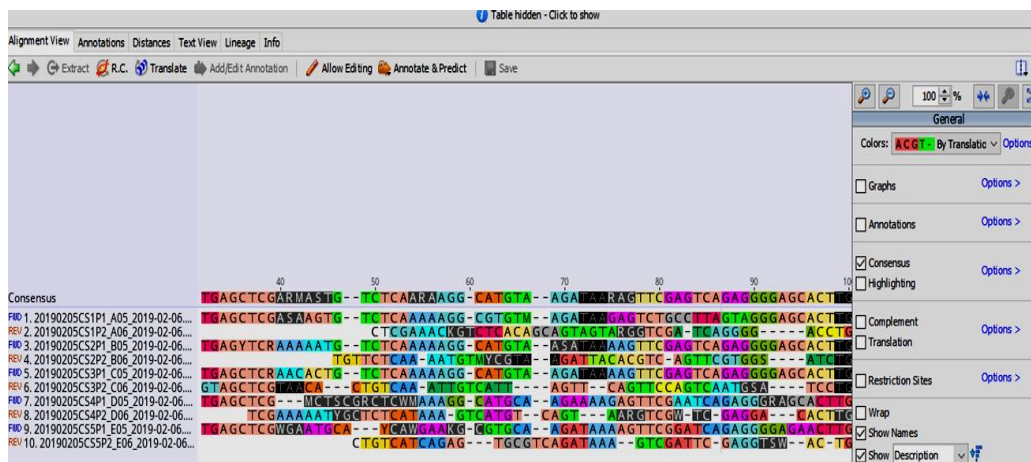


Figura 11.7 Nucleotidele simulate de programul *Geneious Prime 2019* (original)

Figure 11.7 Simulated nucleotides using the *Geneious Prime 2019* soft (original)

11.2.2 Rezultate și discuții

În urma amplificării, utilizând primerii specifici genei *gag-pol*, s-a reușit secvențierea a 5 probe pozitive, obținându-se 10 secvențe, cu lungimi cuprinse între 1163 și 1208 nucleotide (tabelul 11.5 și fig. 11.8).

Mărimea secvențelor obținute pentru probele pozitive

Size of sequences obtained for positive samples

Nume secvență	Sens	Mărime secvență
20190205CS1P1_A05	forward	1195 nt
20190205CSP1_B05	forward	1176 nt
20190205CS3P1_C05	forward	1163 nt
20190205CS4P1_D05	forward	1183 nt
20190205CS5P1_E05	forward	1167 nt
20190205CS1P2_A06	reverse	1178 nt
20190205CS2P2_B06	reverse	1198 nt
20190205CS3P2_C06	reverse	1208 nt
20190205CS4P2_D06	reverse	1199 nt
20190205CS5P2_E06	reverse	1179 nt

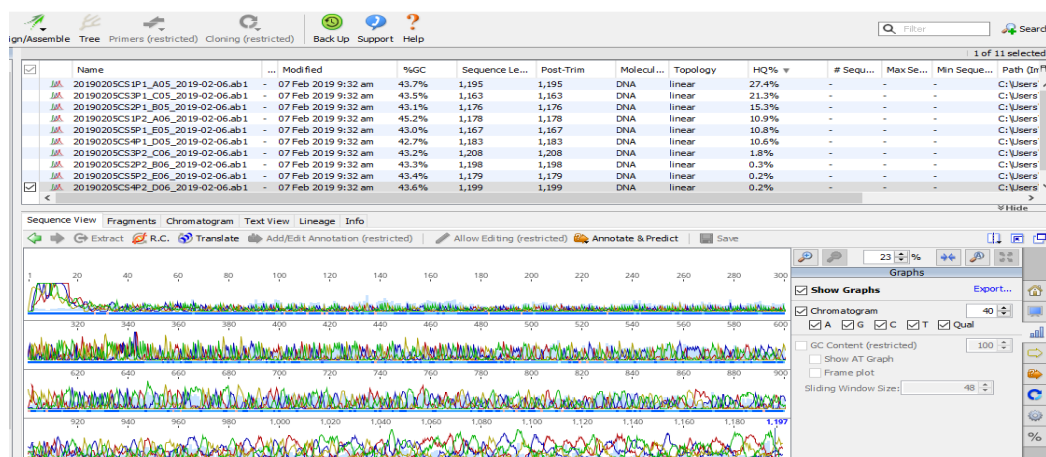


Figura 11.8 Alinierea secvențelor de nucleotide obținute comparativ cu secvența genei *gag* NC_001463.1 (original)

Figure 11.8 Alignment of the obtained nucleotide sequences compared to the *gag* gene sequence NC_001463.1 (original)

Secvențele de nucleotide ale au fost comparate cu cele ale genei *gag* folosind opțiunea BLAST din programul Geneious, accesând baza de date NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Mărimile ampliconilor obținuți (în perechi de baze) și gradul de similitudine cu genomul CAEV, după alinierea/asamblarea secvențelor, sunt redade în figura 11.9.

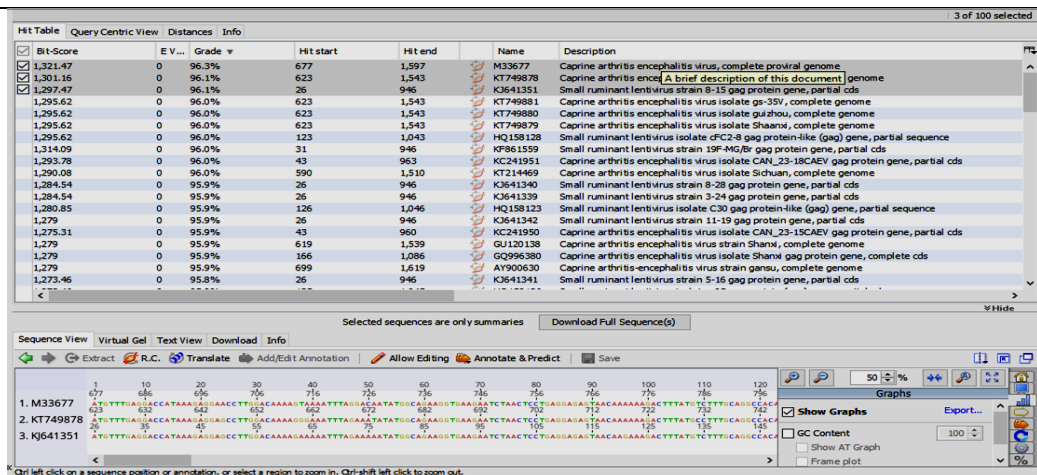


Figura 11.9 Mărimile ampliconilor și gradul de similitudine cu genomul CAEV obținute după asamblarea secvențelor (*original*)

Figure 11.9 Amplification sizes and CAEV genome similarity obtained after sequence assembling (*original*)

Toate pozițiile cu coduri ambigue sau decalaje de aliniere au fost excluse din analiză. Lungimea ampliconilor obținuți după rearanjarea nucleotidelor a fost în medie de 921 nucleotide, înregistrându-se similaritate cu 100 de secvențe cu porțiuni ale genomului CAEV, înregistrate în GenBank. Procentajul de similaritate înregistrat a fost cuprins între un maxim 96,3% (M33677) și un minim de 94,8% (KF861560, JX878404, EU010120 și HQ158131).

SRLVs sunt împărțite în cinci grupe filogenetice (A, B, C, D și E) pe baza analizei secvențierii și a filogenezei genelor *gag* și *pol*. După criteriile de clasificare pentru HIV, secvențele de nucleotide din grupele genotipice diferă între 25% - 37%. Cu toate acestea, genotipurile A, B și E pot fi împărțite în subtipuri diferite variind între 15% - 27% din secvența lor. Grupa B include prototipurile de SRLV izolate de la caprine și este împărțită în trei subtipuri diferite (B1-3). Dintre subtipurile izolate, se consideră genotipul B1 ca aparținând pentru CAEV și genotipul A1 pentru MVV (Shah ș.a., 2004a; Cardinaux ș.a., 2013; Santry ș.a., 2013).

Pentru construcția arborelui filogenetic au fost incluse secvențele prototip SRLVs extrase din GenBank: CAEVCo M33677 și 85/34 AY101611 (USA); Shanxi GU120138 (China); EV1 S51392 (Anglia); KV1514 M60610 (Islanda); Fonni JF502416 și Volterra JF502417 (Italia); FESC-752 HM210570 (Mexic); 1GA AF322109 (Norvegia); P1OLV AF479638 (Portugalia); SAOMVV M34193 (Africa de Sud); 496 FJ195346 și 697 HQ848062 (Spania); A4 AY445885 (Elveția), ale genei *gag* NC_001463.1 și secvențele parțiale ale genei *gag* din cele 5 probe pozitive. Genotipurile și subtipurile incluse pentru construcția arborelui filogenetic sunt redată în tabelul 11.6.

Arborele filogenetic a fost determinat folosind metoda NJ (Neighbor Joint) implementată în MEGA, cu ajutorul programul *Geneious Prime 2019* (tabelul 11.6).

Tabelul 11.6/Table 11.6

Genotipurile si subtipurile SRLVs folosite pentru construcția arborelui filogenetic
The genotypes and subtypes of SRLVs used for the phylogenetic tree construction

Nr. crt.	Numele izolatului	Originea țării	Subtip filogenetic
1	AF479638.1 Ovine lentivirus strain P1OLV	Portugalia	A1
2	S51392.1 maedi-visna-like virus EV1	Anglia	A1
3	M34193.1 OVINE lentivirus	Africa de Sud	A1
4	M60610.1 Visna virus Icelendic strain 1514	Islanda	A1
5	AY101611.1 Visna virus strain 85/34 USA	USA	A2
6	HQ848062.1 MVV isolate 697	Spania	A3
7	AY445885.1 SRVL	Elveția	A4
8	FJ195346.1 CAEV Ov946	Spania	A4
9	HM210570.1	MEXIC	B1
10	GU120138.1 CAEV strain Shanxi	China	B1
11	AJ305041.1 CAEV Br/ufrgs-5/C47	Brazilia	B1
12	M33677.1 CAEV complete proviral genome	USA	B1
13	NC 001463.1:512-1858 CAEV complete genome	USA	B1
14	JF502416.1 CAEV isolate Fonni	Italia	B3
15	JF502417.1 CAEV isolate Volterra	Italia	B3
16	AF322109.1 CAEV 1GA	Norvegia	C
17	EU293537.2 CAEV Roccaverano	Italia	E1
18	GQ381130.1 CAEV strain Seui	Italia	E2

Analiza secvențierii, a filogenezei și a procentajului de similaritate de 96,3-94,8% obținute la probele noastre indică apartenența la grupul filogenetic B, subtipul B1, specific CAEV, folosind clasificarea filigenetică actuală.

Secvențele ampliconilor probei A (20190205CS1P1 A05 și 20190205CS2P2 A06) au fost cele mai apropiate de prototipul CAEVCo M33677.1.

Secvențele de la ampliconii probelor B (20190205CS1P1 B05 și 20190205CS1P2 B06), C (20190205CS3P1 C05 și 20190205CS3P2 C06), D (20190205CS4P1 D05 și 20190205CS4P2 D06) și E (20190205CS5P1 E05 și 20190205CS5P2 E06) sunt distinct grupate în cadrul aceluiași subtip filogenetic, posibil, datorită variației genetice a CAEV, o tulpină specifică României.

Subtipul B1 a fost izolat de la caprine din Europa, America, Africa și Asia. Pe continentul european a fost semnalat în . Elveția, Franța, Italia, Polonia și Slovenia.

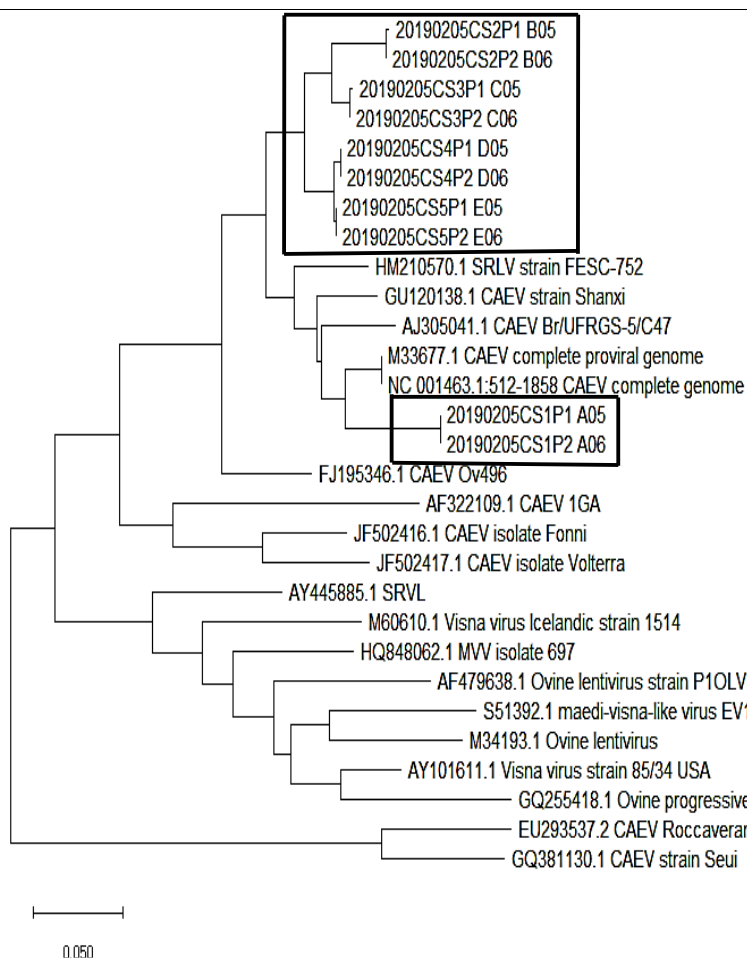


Figura 11.10 Arbore filogenetic a secvențelor genomului CAEV identificate la caprinele din estul României (*original*)

Figure 11.10 Phylogenetic tree of CAEV genome sequences identified in goats in eastern Romania (*original*)

11.2.3 Concluzii parțiale

Analiza filogenetică a secvențele de nucleotide obținute în urma amplificării virale și a secvențierii au constatat un procentaj de similaritate a secvențelor nucleotidice cuprins între 96,3-94,8%, arătând apartenența la prototipul SRLVs, grupul filogenetic B, subtipul B1, specific *virusului artritei encefalitei caprine*.

CAPITOLUL 12. STRATEGIA DE SUPRAVEGHERE ȘI CONTROL A INFECȚIEI CU VIRUSUL ARTRITEI ENCEFALITEI CAPRINE

CHAPTER 12. STRATEGY OF SURVEILLANCE AND CONTROL OF THE INFECTION WITH THE CAPRINE ARTHRITIS ENCPHALITIS VIRUS

Artrita encefalita caprină este o boală infecțioasă, multisistemică inflamatorie specifică caprinelor domestice cu o perioadă de incubație lungă, cu o evoluție lentă și progresivă, persistentă pe toată durata vieții animalului, cu pierderi economice importante (producția scăzută de lapte, sacrificarea prematură, pierderea potențialului genetic valoros al animalelor afectate, etc.).

Deoarece nu există tratament eficient sau vaccin pentru CAE, depistarea precoce este esențială pentru prevenirea și controlul infecțiilor cu CAEV, astfel, un diagnostic de confirmare rapid devine o necesitate. Diagnosticul infecției cu virusul artritei encefalitei caprine poate fi obținut prin teste serologice indicate pentru detectarea răspunsului imun umoral sau prin tehnici moleculare pentru detectarea acidului nucleic. Până în prezent, nu există un "standard de aur" pentru detectarea infecțiilor cu *virusul artritei encefalitei caprine*. Abordarea cea mai practică și de încredere pentru a confirma un diagnostic CAEV este o combinație între metodele de diagnostic clinic și de laborator.

Alegerea tehnicilor de diagnostic pentru efectuarea periodică a testelor depinde nu numai de sensibilitatea sau specificitatea acestora, ci mai ales de disponibilitatea laboratoarelor și a reactivilor, precum și de costurile utilizării lor.

12.1 Scopul cercetărilor

Măsurile strategice de supraveghere și control adoptate au ca scop de a reduce sau elimina pierderile cauzate de boală, cum ar fi: producția scăzută de lapte, sacrificarea prematură și pierderea potențialului genetic valoros al animalelor afectate.

În toate etapele programului de control este esențială depistarea animalelor real negative. Tehnicile de diagnosticare trebuie alese în funcție de raportul cost-beneficiu, disponibilitatea comercială și accesul la laboratoarele de diagnostic.

12.2 Material și metodă

În vederea supravegherii și controlului artritei encefalitei caprine, în România au fost adoptate și realizate proceduri specifice stipulate în Ordinul ANSVSA 35/2016 - Normele metodologice de aplicare a H.G. 1156/2013 la capitolul 1, pct. 33.

În cadrul programelor de supraveghere pasivă a infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine*, în exploatațile de caprine s-au luat în considerare următoarele măsuri:

- ✓ Monitorizarea artritei-encefalitei caprine în populația de caprine.
- ✓ Anunțarea cazurilor clinice de boală.
- ✓ Prelevarea de probe de la animalele cu semne clinice în vederea efectuării examenelor de laborator pentru confirmarea diagnosticului.

În cadrul programelor de control a infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine* în exploatațile de caprine destinate creșterii și reproducției s-au luat în considerare următoarele măsuri strategice:

- ✓ Supravegherea serologică a efectivelor de caprine.
- ✓ Eliminarea animalelor bolnave.

12.3 Rezultate și discuții

În stabilirea etapelor programului de supraveghere și control a artritei encefalitei caprine, s-au luat în considerare următoarele aspecte: costuri mai mici decât majoritatea alternativelor; utile pentru o seroprevalență medie/ridică; un control rapid și eficient; nu este necesară o sursă de animale din exterior; nu este necesară sacrificarea tuturor animalelor; nu este afectată mărimea turmei; se păstrază materialul genetic valoros.

Măsuri referitoare la monitorizarea artritei-encefalitei caprine în populația de caprine.

Certificarea sanitar veterinară la achiziția și mișcarea animalelor. Achiziția de animale trebuie făcută responsabil, recomandat fiind ca noii proprietari să solicite vânzătorului documente sanitar veterinare care să ateste starea de sănătate a efectivelor din care provin caprinele ce urmează a fi cumpărate, și, conform declarației scrise a vânzătorului, că nu au fost achiziționate dintr-o exploatație, sau nu au venit în contact cu animalele dintr-o exploatație, în care a fost detectată clinic, în ultimii trei ani, artrita encefalita caprină. Totuși acest interval limită este redus la 12 luni, dacă animalele afectate de artrita encefalita caprină au fost tăiate, iar animalele care au rămas, s-au reacționat negativ la două testări consecutive la interval de 6 luni.

În majoritatea cazurilor, caprinele sunt achiziționate din efective necunoscute, din diverse zone, achizițiile fiind efectuate fără a fi solicitate documente sanitar veterinare care să certifice starea de sănătate a animalelor.

Carantina profilactică. Pentru a se evita riscul contaminării prin introducerea noilor animale în efectivele de caprine deja existente, proprietarul sau deținătorul de animale, trebuie să mențină animalele într-o perioadă de carantină, până la obținerea rezultatelor testelor serologice. Animalele vor fi supuse examenelor clinice, și, pentru confirmarea diagnosticului în perioada de carantină, vor fi efectuate testări specifice prin metoda imunodifuziei AGID.

Măsuri ce trebuie luate imediat ce se observă apariția semnelor clinice.

În momentul constatării apariției primelor semne clinice de boală, crescătorii de caprine trebuie să anunțe în cel mai scurt timp posibil autoritățile veterinare oficiale.

Notificarea bolii

Artrita encefalita caprină este o boală transmisibilă a caprinelor supusă notificării interne prevăzută în anexa nr. 1 din Ordinului președintelui ANSVSA nr. 79/2008. Măsurile dispuse prin actul sanitar veterinar, în ceea ce privește notificarea internă și declararea oficială a bolii, prevăd obligațiile ce revin medicului oficial al circumscripției sanitar veterinare zonale sau medicului veterinar de liberă practică, persoanelor fizice și juridice și instituțiilor naționale și internaționale, după caz.

Prelevarea de probe de la animalele cu semne clinice în vederea efectuării examenelor de laborator, pentru confirmarea diagnosticului, se realizează de către medicul veterinar oficial al circumscripției sanitar veterinare zonale sau de către medicul veterinar de liberă practică.

În fermele în care prezența CAE trebuie controlată măsurile necesare variază în funcție de starea de sănătate a efectivului și se bazează pe blocarea căilor de transmitere a virusului de la animalele infectate luând în considerare latența virusului, seroconversia întârziată și căile de infecție.

Ținând cont de faptul că principala sursă de infecție este reprezentată de lapte/colostru și secrețiile pulmonare, condițiile de zooigenă au o mare importanță în menținerea și diseminarea bolii.

Astfel, indiferent de sistemul de întreținere, în stabulație liberă sau în adăposturi permanente, trebuie să se asigure evitarea supraaglomerării, curățenia și aerisirea corespunzătoare.

Adoptarea măsurilor pentru prevenirea sau controlul infecției cu CAEV este condiționată de persistența infecției, lipsa tratamentului și a vaccinurilor precum și de costul ridicat al acestora, fapt pentru care monitorizarea și gestionarea efectivului cu teste serologice poate evita pierderile datorate bolii.

Măsuri referitoare la supravegherea serologică a efectivelor de caprine

Din punct de vedere sanitar veterinar, în România, artrita encefalita caprină este o boală supusă supravegherii serologice prin AGID sau ELISA. La efectivele contaminate, testele serologice trebuie efectuate de două ori pe an la un interval de 6 luni la întreg efectivul, iar la efectivele indemne trebuie efectuată o supraveghere serologică o dată pe an, la 10% din efectiv. Testele serologice pentru iezi vor începe la cei cu vârsta de peste 6 luni urmând a fi repetate la un interval de 6 luni.

Măsuri referitoare la eliminarea animalelor bolnave

Există în principiu două opțiuni pentru populațiile de caprine infectate: a) să se adapteze practicilor de gestionare a animalelor pentru a reduce cât mai mult posibil pierderile economice, animalele neinfectate putând fi obținute prin îndepărtarea imediată a nou-născuților din mediul matern urmată de creșterea artificială cu lapte/colostru tratat termic la o temperatură de 56°C, sau cu înlocuitori de lapte/colostru, sau b) să pună în aplicare programe de control bazate pe identificarea și eliminarea animalelor infectate.

Depistarea precoce este esențială astfel, un diagnostic de confirmare rapidă devine o necesitate. Diagnosticul infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine* poate fi obținut prin teste serologice, indicate pentru detectarea răspunsului imun umoral, sau prin tehnici moleculare indicate pentru detectarea acidului nucleic.

Animalele neinfectate trebuie protejate împotriva infecțiilor prin măsuri sanitare și de reglementare.

Animalele diagnosticate ca fiind seropozitive ca urmare a examenelor de laborator trebuie eliminate din efectiv prin sacrificarea lor în abatoare autorizate.

După obținerea a patru rezultate negative consecutive în urma testărilor serologice, efectivul se poate declara liber de CAEV (fig. 12.1).

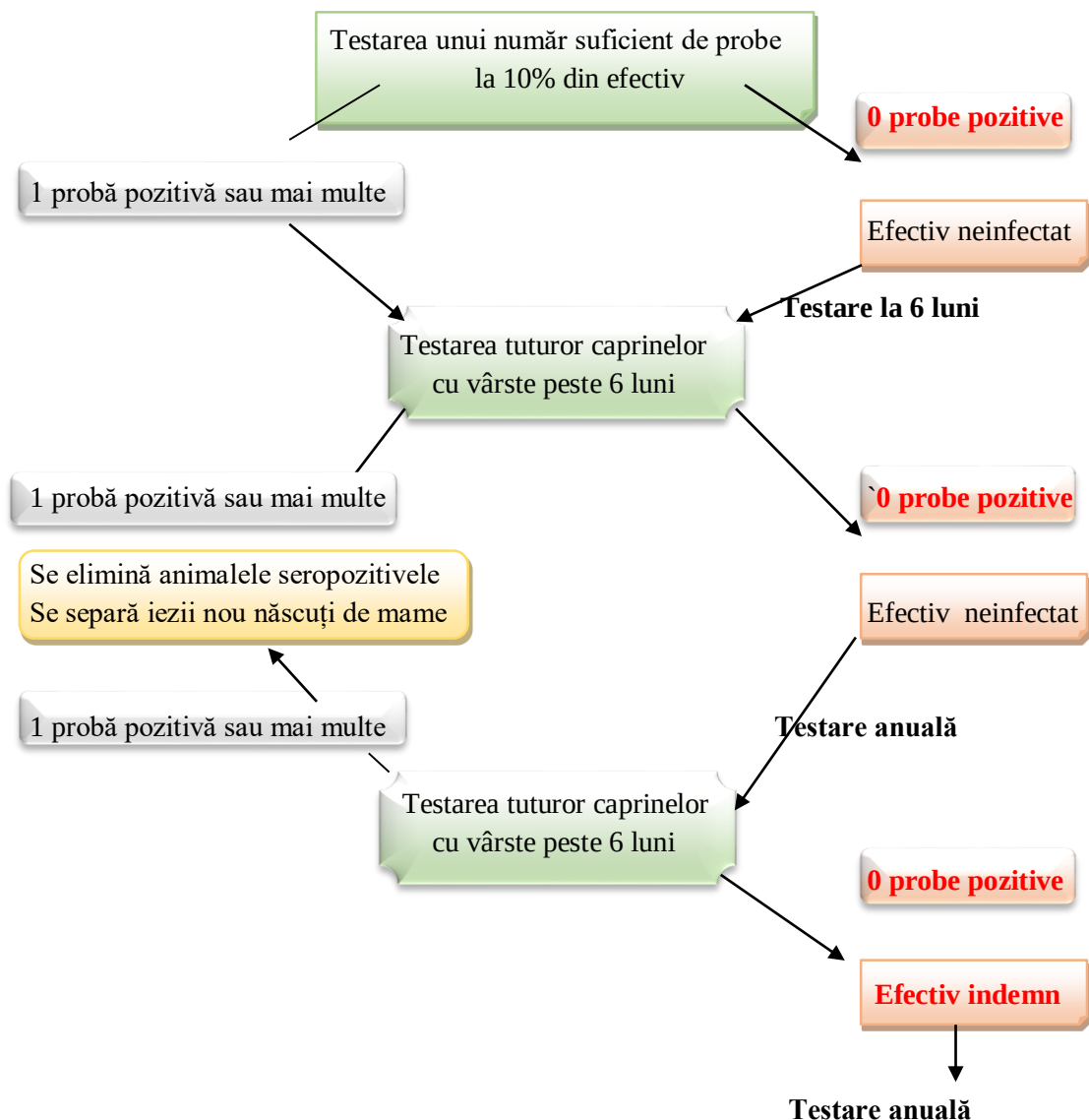


Figura 12.1 Schema proiectului pentru obținerea statutului de efectiv liber de CAEV (original)

Figure 12.1 Scheme of the project to obtain free CAEV status (original)

În programele de control, frecvența efectuării testelor serologice și timpul sunt fundamentale. Cu cât frecvența testărilor este mai mare, cu atât este mai mare segregarea dintre animalele seropozitive și seronegative, iar obiectivele vor fi mai eficient îndeplinite.

Avantajele măsurilor bazate pe identificarea precisă a animalelor infectate, prin teste serologice adecvate, segregarea și/sau sacrificarea celor seropozitive, controlul colostrului și al aprovizionării cu lapte a ieșilor sugari au fost menționate și de Houwers (1984), Phelps și Smith (1993), Greenwood (1995), Callado (2001) și Modolo (2003).

Islanda este singura țară europeană care a eradicat definitiv boala printr-o campanie intensivă de eliminare și repopulare prin introducerea de animale indemne (Pálsson, 1976). Programele de control se desfășoară acum în multe țări europene, cum ar fi: Finlanda, Danemarca, Franța, Norvegia, Suedia și Elveția, dar și în țări precum S.U.A., Canada și Japonia.

12.3 Concluzii parțiale

În fermele în care prezența CAE trebuie controlată, măsurile necesare variază în funcție de starea de sănătate a efectivului, și, se bazează pe blocarea căilor de transmitere a virusului de la animalele infectate luând în considerare latența virusului, seroconversia întârziată și căile de infecție.

Adoptarea măsurilor pentru prevenirea sau controlul infecției cu CAEV este condiționată de persistența infecției, lipsa tratamentului și a vaccinurilor precum și de costul ridicat al acestora, fapt pentru care monitorizarea și gestionarea efectivului cu ajutorul testelor de diagnostic poate evita pierderile datorate bolii.

În programele de control, frecvența efectuării testelor serologice și timpul sunt fundamentale. Cu cât frecvența testărilor este mai mare, cu atât este mai mare segregarea dintre animalele seropozitive și seronegative iar obiectivele vor fi îndeplinite mai eficient.

CAPITOLUL 13. CONCLUZII FINALE

În urma cercetărilor epidemiologice, clinice și imagistice, morfopatologice, histologice, de diagnostic serologic și de biologie moleculară realizate în cadrul tezei de doctorat privind artrita encefalita caprină la caprine în estul României, se desprind următoarele concluzii finale:

1. Efectivele de caprine din județele Botoșani, Iași și Vaslui au înregistrat o creștere semnificativă, astfel, pentru perioada 2007-2017, s-a observat o dublare a numărului de animale din județele Botoșani (de la 14812 la 30438 de caprine) și Vaslui (de la 21717 la 40131 de caprine), iar pentru județul Iași triplarea populației de caprine la sfârșitul anului 2017 (de la 12293 la 36259 de caprine).

2. Examenle clinice efectuate în perioada octombrie 2014 – iunie 2018, la 8628 de caprine de pe teritoriile județelor Botoșani, Iași și Vaslui, au constatat prezența semnelor clinice la 14,19%, respectiv la un număr de 1224 de caprine. Ancheta epidemiologică efectuată a constatat la caprinele examinate prezența simptomatologiei determinată de agenții patogeni infecțioși ai aparatelor: respirator (54,98%), de reproducție (20,02%), digestiv (19,36%) și locomotor (5,64%).

3. Analiza de ansamblu a datelor epidemiologice evidențiază o variație a patologiei de natură infecțioasă în funcție de rasă, etiologie și categorii de vârste. Astfel, o frecvență crescută a fost înregistrată la rasele specializate, de 64,22%, respectiv la un număr de 786 de animale, la caprinele adulte (53,35%, la 786 de animale) și pentru simptomele respiratorii (54,98%, la 673 de animale).

4. Afecțiunile de natură infecțioasă care au fost semnalate sunt cele produse de agenți patogeni infecțioși precum: *Pasteurella multocida*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella spp.*, *Dichelobacter nodosus*, *Fusobacterium necrophorum*, virusul Orf și virusul artritei encefalitei caprine.

5. Examenle serologice prin testele de imunodifuzie în gel de agar, a 762 de probe de ser recoltate de la caprine cu diferite vârste și rase, au evidențiat prezența anticorpilor specifici anti-CAEV la un număr de 134 seruri, ceea ce reprezintă 17,59%. Probele cu rezultate pozitive proveneau de la caprinele din județul Vaslui, din rasele specializate, Alpină franceză și Saanen, femele și masculi cu vârste peste 6 luni, întreținute în sistem de creștere intensiv.

6. Rezultatele fals negative pot apare într-un test AGID datorită seroconversiei întârziată, producției de anticorpi mai lentă sau ca urmare a faptului că anticorpii se află la un nivel nedetectabil în stadiul incipient al infecției, fapt ce recomandă retestarea animalelor aparent sănătoase pentru diagnosticarea serologică precoce și precisă la animalele care ar putea fi o sursă de infecție.

7. Cercetările privind corelarea valorii testelor serologice în diagnosticul artritei encefalitei caprine cu semnele clinice au constatat prezența semnelor clinice la 13,91% din efectiv, confirmând faptul că infecția evoluează de obicei asimptomatic.

8. Procentul mic de animale cu semne clinice manifestate, și, mai ales, rezultatele pozitive obținute la animale care nu prezentau semne clinice, confirmă faptul că infecția evoluează de obicei asimptomatic și recomandă testarea serologică la animalele aparent sănătoase pentru identificarea infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine*.

9. Infecția cu *virusul artritei encefalitei caprine* evoluează la caprinele din rasele specializate, cronic cu localizări, cu o slabă exprimare a semnelor clinice la toate categoriile de vârstă, cu valori cuprinse între 2,25% și 8,99%. La tineretul caprin cu vârsta până în 6 luni s-a constatat evoluția pneumoniei însoțită de slăbire progresivă. La caprinele adulte s-au constatat o evoluție cronică cu localizări exprimată clinic prin poliartrite cronice degenerative, pneumonii interstițiale și mastite indurative.

10. Examenale imagistice ale articulației carpometacarpiană și ale glandei mamare pun în evidență prezența zonelor de calcificare localizate și modificări de structură care pot fi asociate cu evoluția cronică cu localizări a infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine*.

11. Examenelor necropsice efectuate pe 65 de cadavre provenite de la 58 de caprine adulte și 7 de la tineretul caprin au evidențiat leziuni de pneumonie subacută și congestie pronunțată a meningelui la tineretul caprin cu vârste între 6-9 luni și leziuni de artrită, sinovită, pneumonie interstițială și mamită indurativă la caprinele adulte cu vârste peste 2 ani.

12. Examenale histopatologice au pus în evidență: la nivelul articulației leziuni de artrită cronică limfohistiocitară și fibroasă, la nivelul pulmonului leziuni de pneumonie interstițială subacută, de pneumonie interstițială severă, iar la nivelul glandei mamare leziuni de mastită interstițială indurativă.

13. Rezultatele probelor testate prin intermediul nested PCR, utilizarea primerilor specifici pentru CAEV, au evidențiat un fragment de mărimea așteptată amplificat pentru 37 din cele 100 de probe lucrate.

14. Luând în considerare metodele folosite pentru determinarea statusului infecției cu *virusul artritei encefalitei caprine* la cele 100 de caprine, s-a constatat o sensibilitate mai mare a metodei nested PCR, respectiv un număr de 37 de rezultate real pozitive.

15. Analiza filogenetică a secvențelor de nucleotide obținute în urma amplificării virale au constatat un procentaj de similitaritate cuprins între 96,3-94,8%, arătând apartenența la prototipul SRLVs, grupul filogenetic B, subtipul B1, specific *virusului artritei encefalitei caprine*.

16. În programele de control și supraveghere, frecvența efectuării testelor serologice și timpul sunt fundamentale. Cu cât frecvența testărilor este mai mare, cu atât este mai mare segregarea dintre animalele seropozitive și seronegative iar obiectivele vor fi îndeplinite mai eficient.

CHAPTER 12. FINAL CONCLUSIONS

Following epidemiological, clinical and imagistic, morphopathological, histological, serological and molecular biology researches carried out in the PhD thesis on caprine arthritis encephalitis in the east of Romania, the following conclusions can be drawn:

1. The goats in the Botosani, Iasi and Vaslui counties registered a significant increase, thus, for the period 2007-2017, there was a doubling of the number of animals in the Botosani counties (from 14812 to 30438 goats) and Vaslui to 21,717 to 40,131 goats), and for Iasi county the tripling of the goat population at the end of 2017 (from 12,293 to 36,259 goats).

2. The clinical examinations carried out between October 2014 and June 2018 to 8628 goats from Botoșani, Iași and Vaslui counties showed the presence of clinical signs at 14.19% and 1224 goats respectively. The epidemiological survey carried out revealed the presence of symptomatology caused by the infectious pathogens of the respiratory apparatus (54.98%), reproduction (20.02%), digestive (19.36%) and locomotor (5.64%). .

3. The overall analysis of epidemiological data reveals a variation in the pathology of an infectious nature based on race, etiology and age categories. Thus, an increased frequency was registered in specialized breeds of 64.22%, respectively in 786 animals, in adult cattle (53.35% in 786 animals) and in respiratory symptoms (54.98% , to 673 animals).

4. Infectious diseases that have been reported are those caused by infectious pathogens such as *Pasteurella multocida*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella spp.*, *Dichelobacter nodosus*, *Fusobacterium necrophorum*, *Orf virus*, and *caprine arthrithis encephalitis virus*.

5. Serological examinations by agar gel immunodiffusion tests of 762 samples of serum collected from goats of different ages and races revealed the presence of specific anti-CAEV antibodies in 134 sera, which is 17.59 %. Samples with positive results came from the goat in Vaslui county, specialized breeds, French Alpine and Saanen, females and males over 6 months of age, maintained in intensive care system.

6. False negative results may occur in an AGID test due to delayed seroconversion, slower antibody production, or due to the fact that the antibodies are undetectable at the early stage of the infection, which recommends retesting apparently healthy animals for early serological diagnosis and specific to animals that could be a source of infection.

7. Research on correlating the value of serological tests in the diagnosis of clinical signs of caprine arthritis encephalitis revealed the presence of clinical signs at 13.91% of the stock, confirming that the infection usually evolves asymptotically.

8. The low percentage of animals with clinical signs and, in particular, the positive results obtained in non-clinical animals confirm that the infection usually develops asymptotically and recommends serological testing in apparently healthy animals for the detection of *caprine arthrithis encephalitis virus*.

9. Infection with the *caprine arthrithis encephalithis virus* evolves in specialized breeds with localization, with a poor expression of clinical signs in all age groups, with values ranging from 2.25% to 8.99%. In goat youth up to 6 months of age, there was a progression of pneumonia with progressive weakening. Adult goats have experienced a chronic evolution with localized clinical signs of chronic degenerative polyarthritis, interstitial pneumonia and induration mastitis.

10. The imaging examinations of the carpometacarpal joint and mammary gland reveal the presence of localized calcification sites and structural changes that may be associated with the chronic course of localization of the *caprine arthrithis encephalithis virus* infection.

11. The necropsy examinations performed on 65 corpses from 58 adult goats and 7 from goat youth revealed lesions of subacute pneumonia and pronounced congestion of meningea in goat youth aged 6-9 months and injuries of arthritis, interstitial pneumonia and indurational mammals in adult goats aged over 2 years.

12. Histopathological examinations revealed: in the joints lesions of chronic lymphohistiocitary and fibrotic arthritis, pulmonary lesions of subacute interstitial pneumonia, severe interstitial pneumonia, and in the mammary gland lesions of induration interstitial mastitis.

13. The results of samples tested using nested PCR, the use of CAEV-specific primers, revealed an amplified expected fragment for 37 of the 100 samples processed.

14. Taking into account the methods used to determine the status of infection with the *caprine arthrithis encephalithis virus* in the 100 goats, there was a higher sensitivity of the nested PCR method, respectively a number of 37 real positive results.

15. The phylogenetic analysis of the nucleotide sequences obtained from viral amplification revealed a similarity percentage of 96.3-94.8%, showing the belonging to the prototype SRLVs, the phylogenetic group B, the B1 subtype, specific for the goat encephalitis arthritis virus.

16. In the control and surveillance programs, the frequency of serological tests and time are fundamental. The higher the frequency of testing, the greater the segregation between seropositive and seronegative animals and the goals will be met more effectively.

BIBLIOGRAFIE

BIBLIOGRAPHY

1. Abreu S.R.O., Castro R.S., Nascimento S.A., ș.a., 1998 - *Produção de antígeno nucleoprotéico do vírus da artrite-encefalite caprina e comparação com o do vírus Maedi-Visna para utilização em teste de imunodifusão em ágar gel*. Pesq. Vet. Bras., vol. 18, p. 57-60.
2. Adams D.S., Klevjer-Anderson P., Carlson J.L., ș.a., 1983 - *Transmission and control of caprine arthritis-encephalitis virus*. Am. J. Vet. Res., vol. 44, p. 1670-1675.
3. Adams D.S., Oliver R.E., Ameghino E., DeMartini J.C., Verwoerd D.W., Houwers D.J., Waghele S., Gorham J.R., Hyllseth B., Dawson M., ș.a., 1984 - *Global survey of serological evidence of caprine arthritis-encephalitis virus infection*, Vet. Rec., vol.115, p. 493-495.
4. Agrimi P, Tolari F, Legrottaglie R., Renzoni G., Dawson M., 1987 - *Caprine arthritis-encephalitis*. Virus isolation and identification in goat herds in Italy. Microbiologica, vol.10, nr.4, p. 353-361.
5. Al-Qudah K., Al-Majali A.M., ș.a., 2006 - *Epidemiological studies on caprine arthritis-encephalitis virus infection in Jordan*. Small Rumin Res vol. 66, nr. 1-3, p. 181-186.
6. Ali Al Ahmad M.Z., Fieni F., Martignat L., ș.a., 2005 - *Proviral DNA of caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) is detected in cumulus oophorus cells but not in oocytes from naturally infected goats*. Theriogenology, vol. 64, nr. 7, p. 1656-1666.
7. Ali Al Ahmad M.Z., Fieni F., Pellerin J.L., ș.a., 2008 - *Detection of viral genomes of caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) in semen and in genital tract tissues of male goat*. Theriogenology, vol. 69, nr. 4, p. 473-480.
8. Ali Al Ahmad ș.a., 2012 - *Goat uterine epithelial cells are susceptible to infection with Caprine Arthritis Encephalitis Virus (CAEV) in vivo*. Veterinary Research, vol. 43, p. 5.
9. Alvarez V., Arranz J., Daltabuit-Test M., Leginagoikoa I., Juste R.A., Amorena B., de Andres D., Lujan L., Badiola J.J., Berriatua E., 2005 - *Relative contribution of colostrum from maedi-visna virus (MVV) infected ewes to MVV-seroprevalence in lambs*. Res. Vet. Sci. vol. 78, p. 237-243.
10. Alvarez V., Daltabuit-Test M., Arranz J., Leginagoikoa I., Juste R.A., Amorena B., de Andres D., Lujan L., Badiola J.J., Berriatua E., 2006 - *PCR detection of colostrum-associated Maedi-Visna virus (MVV) infection and relationship with ELISA-antibody status in lambs*. Res. Vet. Sci., vol. 80, p. 226-234.
11. Alves F.S.F., 1999 - *Teste de imunodifusão em gel de agarose no diagnóstico da artrite e encefalite caprina utilizando antígenos do lentivírus caprino e ovino*. Embrapa Caprinos, n. 51, p. 1-3. Available from: <<https://www.embrapa.br/busca-depublicacoes/-/publicacao/515272/teste-de-imunodifusao-emgel-de-agarose-no-diagnostico-da-artrite-encefalite-caprinautilizando-antigenos-do-lentivirus-caprino-e-ovino>>. 9 mai 2018.
12. Andrioli A., Gouveia A.M.G., Pinheiro R.R., Rocha M.A., Martins A.S., Santos D.O., 1999 - *Deteção do DNA pró-viral do lentivírus caprino em sêmen de bodes naturalmente infectados [Caprine lentivirus proviral DNA detection in semen of naturally infected bucks]*. Revista Brasileira de Reprodução Animal, vol. 23, p. 420-421.
13. Andrioli A., Gouveia A.M.G., Pinheiro R.R., Martins A.S., Santos D.O., 2006 - *Fatores de risco na transmissão do lentivírus caprino pelo sêmen [Risk factors in caprine lentivirus transmission through semen]*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, vol. 41, p. 1313-1319.
14. Andresson O.S., Elser J.E., Tobin G.J., Greenwood J.D., Gonda M.A., Georgsson G., Andresdottir V., Benediksdottir E., Carlsdottir H.M., Mantyla E.O., 1993 - *Nucleotide sequence and biological properties of a pathogenic proviral molecular clone of neurovirulent visna virus*. Virology, vol. 193, p. 89-105.
15. Angelopoulou K., Karanikolaou K., Papanastasopoulou M., Koumpati-Artopiou M., Vlemmas I., Papadopoulos O., Koptopoulos G., 2005 - *First partial characterisation of small ruminant lentiviruses from Greece*. Vet. Microbiol., vol. 109, p. 1-9.
16. Aslantas O., Ozyoruk F., Gungor B., 2005 - *Serological survey for caprine arthritis-encephalitis virus in Damascus and Kilis goats in Hatay, Turkey*. Revue Med Vet 156: 402-404.
17. Bandeira D.A., de Castro R.S., de Melo C.B., 2009 - *Seroprevalence of caprine arthritis-encephalitis virus in goats in the Cariri region, Paraíba state, Brazil*. Vet J. Jun; vol. 180, nr. 3, p. 399-401.
18. Barlough J., East N., Rowe J.D., ș.a., 1994 - *Double-nested polymerase chain reaction for detection of caprine arthritis-encephalitis virus proviral DNA in blood, milk, and tissues of infected goats*. J Virol Methods, vol. 50, p. 101-114.
19. Barquero N., Gomez-Lucia E., Arjona A., ș.a., 2013 - *Evolution of specific antibodies and proviral DNA in milk of small ruminants infected by small ruminant lentivirus*. Viruses., vol. 5, p. 2614-2623.

20. Barros S.C., Andresdottir V., Fevereiro M., 2005 - *Cellular specificity and replication rate of Maedi Visna virus in vitro can be controlled by LTR sequences*, Arch Virol, vol. 150, p.201–13.
21. Baryshnikova E.I., Malogolovkin A.S., Kolbasova O.L., Tsybanov S., 2011 -*Comparative characteristics of the biological properties of small ruminant lentiviruses*. Vopr. Virusol., vol. 56, p. 42–45.
22. Beck Z., Prohaszka Z., Fust G., 2008 -*Traitors of the immune systemenhancing antibodies in HIV infection: their possible implication in HIV vaccine development*, Vaccine, vol. 26, p. 3078–3085.
23. Belanger D., Leboeuf A., 1993 - *CAEV virus seroprevalence in amixed goat herd*. Vet. Rec., vol. 133, p. 328.
24. Benavides J., Garcia-Pariente C., Fuertes M., Ferreras M.C., Garcia-Martin J.F., Juste R.a., Perez V., 2009 – *Maedi-visna: the meningoencephalitis in naturally occurring cases*. J. Comp. Pathol. vol. 140, nr. 1, p. 1-11.
25. Berkhout B., 1996 - *Structure and function of the human immunodeficiency virus leader RNA*. Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol. vol. 54, p. 1-34.
26. Berriatua E., Extramiana A.B., Gonzalez L., Alvarez V., Daltabuit-Test M., Juste R.A., 2002 - *Estudio serológico longitudinal de Maedi-Visna en ovino lechero del País Vasco. Implicaciones para el control e importancia relativa de la transmisión vertical y horizontal*. In: Peris-Palau, B., Molina-Pons, P., Lorente-Alonso, M., García-Muñoz, A. (Eds.), Jornadas Científicas de la SEOC, vol. 27. Produccion Ovina y Caprina, p. 522–528 ISBN 84-95219-57-3.
27. Bernadina W.E., Franken P.,1985 - *A simple method for the demonstration of factors in bovine colostrum capable of causing anaemia in lambs reared free from maedi on bovine colostrum*. Vet. Immunol. Immunopathol. vol. 10, p. 297–303.
28. Bertolotti L., Mazzei M., Puggioni G., Carrozza M.L.; Dei Giudici S., Muz D., Juganaru M., Patta C., Tolari F., Rosati S., 2011 - *Characterization of new small ruminant lentivirus subtype B3 suggests animal trade within the Mediterranean Basin*. J. Gen. Virol., vol. 92, p. 1923–1929.
29. Bertoni G., Blacklaws B.A., 2010 - *Small ruminant lentiviruses and cross species transmission*. In: Desport M, editor. *Lentivirus and macrophages: molecular and cellular interactions*. Caister Academic Press, p. 277–306.
30. Beyer J.C., Chebloune Y., Mselli-Lakhal L., Hotzel I., Kumpula-McWhirter N., Cheevers W.P., 2001 - *Immunization with plasmid DNA expressing the caprine arthritis–encephalitis virus envelope gene: quantitative and qualitative aspects of antibody response to viral surface glycoprotein*. Vaccine., vol. 19. p. 1643–1651.
31. Bird P., Reyburn H.T., Blacklaws Barbara, Allen D., Nettleton P., Yirrell D.L., ş.a., 1995 - *The restricted IgG1 antibody response to maedi visna virus is seen following infection but not following immunization with recombinant gag protein*, Clin Exp Immunol, vol. 102, p. 274–280.
32. Birgel Junior E.H., Cestari V., Sampaio R.M., Lara M.C.C.S.H., Birgel D.B., Raimondo R.F.S., Brandespin F.B., Birgel E.H., 2007 - *Influência da infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina nas características físicoquímicas e celulares do leite de caprinos*. Arquivos do Instituto Biológico, vol. 74, nr. 3, p. 199-206.
33. Blacklaws Barbara, Berriatua E., Torsteinsdottir S., Watt N.J., de Andres D., Klein D., ş.a., 2004 - *Transmission of small ruminant lentiviruses*. Vet Microbiol, vol. 101, p. 199–208.
34. Blacklaws Barbara, Harkiss G.D., 2010 - *Small ruminant lentiviruses and human immunodeficiency virus: cousins that take a long view*, Curr HIV Res, vol. 8, p. 26–52.
35. Blacklaws Barbara, 2012 - *Small ruminant lentiviruses: Immunopathogenesis of visna-maedi and caprine arthritis and encephalitis virus*. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, vol. 35, p. 259– 269.
36. Bolea R., Monleon E., Carrasco L., Vargas A., de Andres D., Amorena B., Badiola J.J., Lujan L., 2006 - *Maedi-visna virus infection of ovine mammary epithelial cells*. Vet. Res. vol. 37, p. 133–144.
37. Brajon G., Mandas D., Liciardi M., ş.a., 2012 - *Development and field testing of a real-time PCR assay for caprine arthritis-encephalitis-virus (CAEV)*. Open Virol J. vol. 6, p. 82-90.
38. Brandao C.F.L., Campos G.S., Silva A.C.R., Torres J.A., Tigre D.M., Sardi S.I., 2013 - *Monoclonal antibodies against Caprine arthritis-encephalitis virus epitopes in the p28 and p55gag viral proteins*. Journal of Virological Methods, vol. 187, nr. 2, p. 352-356.
39. Brodie S.J., Marcom K.A., Pearson L.D., Anderson B.C., de la ConchaBermejillo A., Ellis J.A., ş.a., 1992 - *Effects of virus load in the pathogenesis of lentivirus-induced lymphoid interstitial pneumonia*. J. Infect. Dis., vol. 166, p. 531–541.
40. Brogden K.A., Lehmkuahl H.D., Cutlip R.C., 1998 - *Pasteurella haemolytica complicated respiratory infections in sheep and goats*. Veterinary Research, BioMed Central, vol. 29, nr. 3-4, p. 233-254.
41. Brulisaue F., Vogt H.R. ş.a., 2005 - *Risk factors for the infection of Swiss goat herds with small ruminant lentivirus: a case-control study*. Vet. Rec. vol. 157, nr. 8, p. 229–233.

42. Buddle B.M., Pfeffer A., Cole D.J., Pulford H.D., Ralston M.J., 1990 - *A caprine pneumonia outbreak associated with caprine herpesvirus and Pasteurella haemolytica respiratory infection*. New Zealand Veterinary Journal. vol. 38, p. 28-31.
43. Callado A.K.C., Castro R.S., Teixeira M.F.S., 2001 - *Lentivírus de pequenos ruminantes (CAEV e Maedi-visna): revisão e perspectivas*. Pesquisa Veterinária Brasileira, vol. 21, nr. 3, p. 87-97.
44. Cardinaux L., Zahno M.L., Deubelbeiss M., Zanon R., Vogt H.R., Bertoni G., 2013 - *Virological and phylogenetic characterization of attenuated small ruminant lentivirus isolates eluding efficient serological detection*. Veterinary Microbiology, vol. 162, nr.2-4, p. 572-581.
45. Carneiro F.F.D., Brito R.L.L., Santos V.W.S., Gomes T.C.L., Andrioli A., Pinheiro R.R., 2011 - *Perdas econômicas decorrentes da artrite-encefalite caprina na produção de gordura e sólidos totais de leite*. Revista Científica de Produção Animal, vol. 13, nr. 1, p. 130-134.
46. Carp Cărare M., Timofte D., 2002 - *Imunologie Imunopatologie*, Editura Venus Iași, 130-133.
47. Castro R.S., Greenland T., Leite R.C., Gouveia A., Mornex J.F., Cordier G., 1999 - *Conserved sequence motifs involving the tat reading frame of Brazilian caprine lentiviruses indicate affiliations to both caprine arthritis-encephalitis virus and visna-maedi virus*, J. Gen. Virol., vol.80, p.1583-1589.
48. Chebloune Y., Karr B., Sheffer D., ş.a., 1996a - *Variations in lentiviral gene expression in monocyte-derived macrophages from naturally infected sheep*. J. Gen. Virol. vol. 77, p. 2037-2051.
49. Chebloune Y., Sheffer D., Karr B.M., Stephens E., Narayan O., 1996b - *Restrictive type of replication of ovine/caprine lentiviruses in ovine fibroblast cell cultures*. Virology, vol. 222, p. 21-30.
50. Cheevers W.P., Roberson S., Klevjer-Anderson P., ş.a., 1981 - *Characterization of caprine arthritis-encephalitis virus - A retrovirus of goats*. Arch. Virol., vol. 67, p. 111-117.
51. Cheevers W.P., Knowles D.P., McGuire T.C., Baszler T.V., Hullinger G.A., 1994 - *Caprine arthritis-encephalitis lentivirus (CAEV) challenge of goats immunized with recombinant vaccinia virus expressing CAEV surface and transmembrane envelope glycoproteins*. Vet. Immunol. Immunopathol. vol. 42, p. 237 - 251.
52. Cheevers W.P., Beyer J.C., Knowles D.P., 1997 - *Type 1 and type 2 cytokine gene expression by viral gp135 surface protein-activated T lymphocytes in caprine arthritis-encephalitis lentivirus infection*. J Virol., vol. 71, p. 6259-6263.
53. Cheevers W.P., Hotzel I., Beyer J.C., Kumpula-McWhirter N., 2000 - *Immune response to caprine arthritis-encephalitis virus surface protein induced by coimmunization with recombinant vaccinia viruses expressing the caprine arthritis-encephalitis virus envelope gene and caprine interleukin-12*. Vaccine. vol. 18, p. 2494-2503.
54. Cheevers W.P., Snekvik K.R., Trujillo J.D., Kumpula-McWhirter N.M., Pretty On Top K.J., Knowles D.P., 2003 - *Prime-boost vaccination with plasmid DNA encoding caprine-arthritis encephalitis lentivirus env and viral SU suppresses challenge virus and development of arthritis*. Virology. vol. 306, p. 116-125.
55. Christodoulopoulos G., 2006 - *Maedi-Visna: Clinical review and short reference on the disease status in Mediterranean countries*, Small Rum. Res., 62, p.47-53.
56. Coackley W., Smith V.W., Maker D., Dickson J., 1981 - *Isolation of caprine syncytial retrovirus*. Aust. Vet. J. vol. 57, p. 480-481.
57. Coffin J.M., 1992 - *Structure and classification of retroviruses in The retroviridae*, ed. J.A. Levy, p. 19-49. Plenum Press, New York
58. Coffin J.M., 1992b - *Genetic diversity and evolution of retroviruses*. Curr. Top. Microbiol. Immunol. vol. 176, p. 143-164.
59. Coffin J.M., 1996 - *Retroviridae and their replication In Virology* (Fields B.N., Knipe D.M., Howley P.M., Chanock R.M., Melnick J.L., Monath T.P., Roizman B., Strus S.E. (Eds.), Virology, third ed., p. 1767-1848.
60. Cork L.C., Hadlow W.J., Crawford T.B., Gorham J.R., Piper R.C., 1974 - *Infectious leukoencephalomyelitis of young goats*. J Infect Dis, vol. 129, nr. 2, p. 134-141.
61. Cortez Romero C., Fieni F., Roux C., Russo P., Guibert J.M., Guiguen F., ş.a., 2006 - *Detection of ovine lentivirus in the cumulus cells, but not in the oocytes or follicular fluid, of naturally infected sheep*. Theriogenology, vol. 66, p. 1131-1139.
62. Cortez Romero C., Fieni F., Russo P., Pepin M., Roux C., Pellerin J.L., 2011 - *Presence of Maedi Visna virus (MVV)-proviral DNA in the genital tissues of naturally infected ewes*. Reprod. Dom. Anim., vol. 46, p. 1-6.
63. Crawford T., Adams D., Oheewers W., Cork L., 1980 - *Chronic arthritis in goats caused by a retrovirus*. Science, vol. 207, p. 997-999.
64. Crawford T.B., Adams D.S., Sande R.D., Gorham J.R., 1980 - *The Connective Tissue Component of the Caprine Arthritis-Encephalitis Syndrome*. American Journal of Pathology vol. 100, p. 443-450.
65. Crawford T.B., Adams D.S., 1981- *Caprine arthritis-encephalitis: clinical features and presence of antibody in selected goat populations*. Journal of the American Veterinary Medical Association, vol. 178, nr. 7,

p. 713-719.

66. Cruz J.C.M., Gouveia A.M.G., Souza K.C., ş.a., 2009, *Caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) detection in semen of endangered goat breeds by nested polymerase chain reaction*. Small Rumin Res., vol. 85, p. 149-152.
67. Cutlip R.C., Howard D., Lehmkuhl H.D., 1986 - *Erradication of ovine progressive pneumonia from sheep flocks*. J. Am. Vet. Med. vol. 188, p. 1026-1027.
68. Cutlip R.C., Weaver A.L.J., 1992 - *Prevalence of antibody to caprine arthritis-encephalitis virus in goats in the U.S.A*. Am Vet Med Assoc. Vol. 200, nr. 6, p. 802-805.
69. Davies J.M., Watt N.J., Torsteinsdottir S., Carnegie P.R., 1996 - *Mimicry of a 21.5 kDa myelin basic protein peptide by a Maedi Visna virus polymerase peptide does not contribute to the pathogenesis of encephalitis in sheep*. Vet. Immunol. Immunopathol. Vol. 55, p. 127-139.
70. Dawson M., Jeffrey M., Chasey D., Venables C., Sharp J., 1983 - *Isolation of syncytium-forming virus from goat with polyarthritis*. Vet Rec 112, p. 319-321.
71. de Andres D., Klein D., Watt N.J., ş.a., 2005 - *Diagnostic tests for small ruminant lentiviruses*. Vet. Microbiol., vol. 107, p. 49-62.
72. de Andres X., Reina R., Ciriza J., Crespo H., Glaria I., Ramirez H., ş.a., 2009 - *Use of B7 costimulatory molecules as adjuvants in a primeboost vaccination against Visna/Maedi ovine lentivirus*. Vaccine. vol. 27, p. 4591-4600.
73. de Boer G.F., Terpstra C., Houwers D.J., 1978 - *Studies of Zwoegeerziekte (maedi) in the Netherlands, a review*. Bull. Off. Int. Epiz. vol. 89, p. 487-506.
74. de Boer G.F., Houwers D.J., 1979 - *Epizootiology of maedi/visna in sheep*. In: Tyrrell, D.A.J. (Ed.), Aspects of Slow and Persistent Virus Infections. Martinus Nijhof for the European Commission, Luxembourg, p. 198-220.
75. DeMartini J.C., Bowen R.A., Carlson J.O., de la Concha-Bermejillo A., 1991 - *Strategies for the genetic control of ovine lentivirus infections*. In: Axford, R.F.E. (Ed.), Breeding for Disease Resistance in Farm Animals. CABI, Oxford, p. 301- 324.
76. Desrosiers R.C., 2007 - *Nonhuman lentiviruses*. Fields virology. 5th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, p. 2215-2243.
77. Ellis T., Robinsin W., Wilcox G., 1983 - *Characterisation, experimental infection and serological response to caprine retrovirus*. Aus. Vet J, vol. 60, nr. 6, p. 321-326.
78. Eltahir Y.M., Dovas C.I., Papanastassopoulou M., ş.a., 2006 - *Development of a semi-nested PCR using degenerate primers for the generic detection of small ruminant lentivirus proviral DNA*. J Virol. Methods, vol. 135, p. 240-246.
79. Enache D.A., Baraitareanu S., Dan M., Gurau M.R., Otelea F., Dobre A., Danes D., 2017 - *Preliminary results of MVV and CAEV seroprevalence in Romanian sheep and goats*. Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine, vol. LXIII(1), p. 95-100.
80. Erhouma E., Guiguen F., Chebloune Y., Gauthier D., Lakhal L.M., Greenland T., ş.a., 2008 - *Small ruminant lentivirus proviral sequences from wild ibexes in contact with domestic goats*. J Gen Virol, vol. 89, p. 1478-84.
81. Extramiana A.B., González L., Cortabarría N., García M., Juste R.A., 2002 - *Evaluation of a PCR technique for the detection of Maedi-Visna proviral DNA in blood, milk and tissue samples of naturally infected sheep*. Small Rum. Res., vol. 44, p. 109-118.
82. Feitosaa L.A.L.V., de Silva Teixeira M.F., Rizaldo P.R., Silva da Cunhac R.M., Santos Limad J.P.M., Andriolib A., Medeiros D.T.V., Pessoa de Meloa V.S., Nunes Pinheiroa D.C.S., 2010 - *Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses from Northern Brazil*. Small Rum. Res., vol. 94, p. 205-209.
83. Fieni F., Rowe J., Van Hoosear K., Burucoa C., Oppenheim S., Anderson G., ş.a. 2003 - *Presence of caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) proviral DNA in genital tract tissues of superovulated dairy goat does*. Theriogenology, vol. 59, p. 1515-1523.
84. Ferrer L.M., 1996 - *Control del Maedi-Visna en Explotaciones Ovinas Extensivas con Elevada Seroprevalencia*. Thesis/Dissertation. University of Zaragoza.
85. Geballe A.P., Ventura P., Stowring L., Haase A.T., 1985 - *Quantitative analysis of visna virus replication in vivo*. Virology, vol. 141, p. 148-154.
86. Gendelman H.E., Narayan O., Clements J.E., Molineaux S., Ghotbi Z., 1985 - *Slow, persistent replication of lentiviruses: role of tissue macrophages and macrophage precursors in bone marrow*. Proc Natl Acad Sci U.S.A., col. 82, p. 7086-7090.
87. Gendelman H.E., Kennedy-Stoskopf S., Kennedy P.G., Stanley J., Clements J.E., Ghotbi Z., Pezeshkpour G., 1986 - *Tropism of sheep lentiviruses for monocytes: susceptibility to infection and virus gene expression increase during maturation of monocytes to macrophages*. J Virol, vol. 58, nr. 1, p. 67-74.
88. Germain K., Valas S., 2006 - *Distribution and heterogeneity of small ruminant lentivirus envelope*

subtypes in naturally infected French sheep. *Virus Res.*, vol. 120, p. 156–162.

89. Ghanem Y.M., Heybe A., 2009 - *Prevalence and risk factors of caprine arthritis encephalitis virus infection in Northern Somalia*. *Small Rum Res.*, vol. 85, p. 142–148.

90. Gjerset B., Jonassen C.M., Rimstad E., 2007 - *Natural transmission and comparative analysis of small ruminant lentiviruses in the Norwegian sheep and goat populations*. *Virus Res.*, vol. 125, p. 153–161.

91. Gjerset B., Storset A.K., Rimstad E., 2006 - *Genetic diversity of small-ruminant lentiviruses: Characterization of Norwegian isolates of Caprine arthritis encephalitis virus*. *J. Gen. Virol.*, vol. 87, p. 573–580.

92. Glaria I., Reina R., Crespo H., de Andres X., Ramirez H., Biescas E., Perez M.M., Badiola J., Lujan L., Amorena B., ș.a., 2009 - *Phylogenetic analysis of SRLV sequences from an arthritic sheep outbreak demonstrates the introduction of CAEV-like viruses among Spanish sheep*. *Vet. Microbiol.*, vol. 138, p. 156–162.

93. Glaria I., Reina R., Ramirez H., de Andres X., Crespo H., Jauregui P., Salazar E., Lujan L., Perez M.M., Benavides J., ș.a., 2012 - *Visna/Maedi virus genetic characterization and serological diagnosis of infection in sheep from a neurological outbreak*. *Vet. Microbiol.*, vol. 155, p. 137–146.

94. Gonzalez L., Gelabert J.L., Mrco J.C., Sez de Oqriz C., 1987 - *Caprine arthritis-encephalitis in the Basque country, Spain*. *Vet. Rec.* vol. 120, p. 102–109.

95. Gonzalez B., Reina R., Garcia I., de Andres S., Glaria I., Alzueta M., ș.a., 2005 - *Mucosal immunization of sheep with a Maedi-Visna virus (MVV) env DNA vaccine protects against early MVV productive infection*. *Vaccine*. vol. 23, p. 4342–4352.

96. Gorrell M.D., Brandon M.R., Sheffer D., Adams R.J., Narayan O., 1992 - *Ovine lentivirus is macrophagetropic and does not replicate productively in T lymphocytes*. *J Virol*, vol. 66, nr. 5, p. 2679–2688.

97. Gouveia A.M.G., 2012 - *Lentivirose de pequenos ruminantes*. *Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia*, nr. 64, p. 46–59.

98. Greenwood P.L., 1995a - *Effects of caprine arthritis-encephalitis virus on productivity and health of dairy goats in New South Wales, Australia*. *Prev. Vet. Med.* vol. 22, p. 71–87.

99. Greenwood P.L., North R.N., Kirkland P.D., 1995b - *Prevalence, spread and control of caprine arthritis-encephalitis virus in dairy goat herds in New South Wales*. *Aust. Vet. J.* Vol. 72, p. 341–345.

100. Grego E., Profiti M., Giammarioli M., ș.a., 2002 - *Genetic heterogeneity of small ruminant lentiviruses involves immunodominant epitope of capsid antigen and affects sensitivity of single-strain-based immunoassay*. *Clin Vaccin Immunol.*, vol. 9, p. 828–832.

101. Grego E., Bertolotti L., Carrozza M.L., Profiti M., Mazzei M., Tolari F., Rosati S., 2005 - *Genetic and antigenic characterization of the matrix protein of two genetically distinct ovine lentiviruses*. *Vet. Microbiol.*, vol. 106, p. 179–185.

102. Grego E., Bertolotti L., Quasso A., Profiti M., Lacerenza D., Muz D., Rosati S., 2007 - *Genetic characterization of small ruminant lentivirus in Italian mixed flocks: evidence for a novel genotype circulating in a local goat population*. *J. Gen. Virol.*, vol. 88, p. 3423–3427.

103. Grewal A.S., Wells R., 1986 - *Vulvovaginitis of goats due to a herpesvirus*, *Aust. Vet. J.*, vol. 63, p. 79–82.

104. Grossi P., Giudice C., Bertolotti I., Ciccarelli G., Brocchi E., Cammarata G., ș.a., 2005 - *Immunohistochemical detection of p27 capsidprotein of caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) in bone-marrow cells of seropositive goats*. *J. Comp. Pathol.*, vol. 133, p. 197–200.

105. Grund C.H., Lechman E.R., Pezzuolo N.A., Issel C.J., Montelaro R.C., 1996 - *Fine specificity of equine infectious anaemia virus gp90-specific antibodies associated with protective and enhancing immune responses in experimentally infected and immunized ponies*, *J Gen Virol*, vol. 77, nr.3, p. 435–442.

106. Guiguen F., Mselli-Lakhal L., Durand J., Du J., Favier C., Fornazero C., ș.a., 2000 - *Experimental infection of Mouflon-domestic sheep hybrids with caprine arthritis-encephalitis virus*. *Am J Vet Res*, vol. 61, p. 456–461.

107. Gufler H., Gasteiner J. ș.a., 2007 - *Serological study of small ruminant lentivirus in goats in Italy*. *Small. Rumin. Res.* vol. 73, nr. 1–3, p. 169–173.

108. Gufler H., 2013 - *Challenges of the caprine lentivirus control programme in South Tyrol, Italy*. *Small Rumin. Res.* vol. 110, p. 112–114.

109. Guimaraes A.S., Seyffert N., Bastos B.L., Portela R.W.D., MEyer R., Carmo F.B., Cruz J.C.M., McCulloch J.A., Lage A.P., Heinemann M.B., Miyoshi A., Azevedo V., Gouveia A.M G., 2009 - *Caseous lymphadenitis in sheep flocks of the state of Minas Gerais, Brazil: prevalence and management surveys*. *Small Ruminant Research*, vol. 87, nr. 1-3, p. 86–91. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921448809001850>. Viewed: 05.05.2017. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres>.

110. Gurău M.R., Băraïtareanu S., Daneş D., 2015 - *Serological survey of caprine arthritis-encephalitis virus infection in a southeastern Romanian farm*. Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine. vol. 61, nr.2, p. 169-171.
111. Guven M.N., 1985 - *Maedi-visna eradication programme in Ireland*. In: Sharp, J.M., Hoff-Jorgensen, R. (Eds.), *Slow Viruses in Sheep, Goats and Cattle*. Martinus Nijhof for the European Commission, Luxembourg, p. 283–289.
112. Haase A.T., Stowring L., Narayan P., Price D., 1977 – *Slow persistent infection caused by visna virus: role of host restriction*. Science, vol. 195, p. 175-177.
113. Haase A.T., 1986 - *Pathogenesis of lentivirus infections*. Nature., vol. 322, pp. 130-136.
114. Haase A.T., Retzel E.F., Staskus K.A., 1990 - *Amplification and detection of lentiviral DNA inside cells*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., vol. 87, p. 4971–4975.
115. Hanson J., Hydbring E., Olsson K., 1996 - *A long term study of goats naturally infected with caprine arthritis-encephalitis virus*. Acta Vet Scand., vol. 37, p. 31-39.
116. Harkiss G.D., Veitch D., Dickson L., Watt N.J., 1993 - *Autoimmune reactivity in sheep induced by the visna retrovirus*. J. Autoimmun., vol. 6, p. 63–75.
117. Harmache A., Vitu C., Guiguen F., Russo P., Bertonni G., Pepin M., ş.a., 1998 - *Priming with tat-deleted caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) proviral DNA or live virus protects goats from challenge with pathogenic CAEV*. J. Virol. vol. 72, p. 6796–6804.
118. Herrmann-Hoesing L.M., Noh S.M., White S.N., Snekvik K.R., Truscott T., Knowles D.P., 2009 - *Peripheral ovine progressive pneumonia provirus levels correlate with and predict histological tissue lesion severity in naturally infected sheep*, Clin Vaccine Immunol, vol. 16, p. 551-557.
119. Herrmann-Hoesing L.M., 2010 - *Diagnostic assays used to control small ruminant lentiviruses*. J Vet Diagn Invest., vol. 22, p. 843-855.
120. Hoff-Jorgensen, R., 1985 - *Control programme for lentivirus infections in Danish sheep and goats*. In: Sharp, J.M., Hoff-Jorgensen, R. (Eds.), *Slow Viruses in Sheep, Goats and Cattle*. Martinus Nijhof for the European Commission, Luxembourg, p. 133–137.
121. Houwers D.J., Konig C.D., De Boer G.F., Schaake J., 1983 - *Maedi-Visna control in sheep. I. Artificial rearing of colostrum-deprived lambs*. Vet. Microbiol. vol. 8, p. 179– 185.
122. Houwers D.J., Schaake J., de Boer G.F., 1984 - *Maedi-Visna control in sheep.II. Halfyearly serological testing with culling of positive ewes and progeny*. Vet. Microbiol. vol. 9, p. 445–451.
123. Houwers D.J., Konig C.D., Bakker J., de Boer M.J., Pekelder J.J., Sol J., Vellema P., de Vries G., 1987 - *Maedi-visna control in sheep III: results and evaluation of a voluntary control program in the Netherlands over a period of four years*. Vet. Q. vol. 9, p. 29–36.
124. Houwers D.J., Visscher A.H., Defise P.R., 1989 - *Importance of ewe lamb relationship and breed in the epidemiology of maedi-visna virus infections*. Res. Vet. Sci. vol. 46, p. 5–8.
125. Houwers D.J., 1990 - *Economic importance, epidemiology and control*. In: Pétursson, G., Hoff-Jørgensen, R. (Eds.), *Maedi-Visna and Related Diseases*. Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, p. 83–117.
126. http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap?disease_type_hidden=&disease_id_hidden=&selected_disease_name_hidden=&disease_type=0&disease_id_terrestrial=46&species_t=0&disease_id_aquatic=-999&species_a=0&sta_method=semestery&selected_start_year=2017&selected_report_period=1&selected_start_month=1&date_submit=OK
127. https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/reverse-transcribing-dna-and-rna-viruses-2011/w/rt_viruses/162/retroviridae-figures.
128. Huang J., Sun Y., Liu Y., Xiao H., Zhuang S., 2012 - *Development of a loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of caprine arthritis-encephalitis virus proviral DNA*. Arch. Virol., vol. 157, p. 1463–1469.
129. International Commite on Taxonomy of Viruses – ICTV. 2013. Available from: <<http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>>.
130. Johnson L.K., Meyer A.L., Zink M.C., 1992 - *Detection of ovine lentivirus in seronegative sheep by in situ hybridization, PCR, and cocultivation with susceptible cells*. Clin. Immunol. Immunopathol., vol. 65, nr. 3, p. 254-260.
131. Jolly P.E., Huso D.L., Sheffer D., Narayan O., 1989 - *Modulation of lentivirus replication by antibodies: Fc portion of immunoglobulin molecule is essential for enhancement of binding, internalization, and neutralization of visna virus in macrophages*, J Virol, vol. 63, p. 1811–1813.
132. Jolly P.E., Narayan O., 1989 - *Evidence for interference, coinfections, and intertypic virus enhancement of infection by ovine-caprine lentiviruses*. J Virol., vol. 63, p. 4682–4688.
133. Jubb K.V.F., Palmer N., Kennedy P.C., 1991 – *Pathology of Domestic Animals*, vol.1, Academic Press

Inc, San Diego, p. 416.

134. Juste R.A., Ott T.L., Kwang J., Bazer F.W., de La Concha-Bermejillo A., 2000 - *Effects of recombinant ovine interferon-tau on ovine lentivirus replication and progression of disease*, J Gen Virol, vol. 81, p. 525–532.
135. Juste R.A., Minguijon E., Arranz J., Fuertes M., Beltran de Heredia I., 2009 - *Lamb mortality in an outbreak of Yersinia pseudotuberculosis mastitis, as a collateral effect of colostrum feeding for Lentivirus-control*. Small Rumin. Res. vol. 86, p. 46–51.
136. Kaba J., Ganter M., Bickhardt K., Prandota J., 1997- *Prevalence of antibodies to caprine arthritis encephalitis virus in breeding goats in Poland*. Epidemiol Sante Anim, vol 71, p. 31-32.
137. Kaba J., Rola M., Materniak M., Kuzmak J., Nowicki M., 2009 - *Isolation and characterization of caprine arthritis encephalitis virus in goats from Poland*. Pol J Vet Sci., vol. 12, nr. 2, p. 183-188.
138. Kaba J., Bagnicka E., Czopowicz M., Nowicki M., Witkowski L., Szaluś-Jordanow Olga, 2011 - *Long-term study on the spread of caprine arthritis-encephalitis in a goat herd*. Centr. Eur. J. Immunol. vol. 36, nr. 3, p. 170-173.
139. Kaba J., Nowicki M., Sobczak-Filipiak M., Witkowski L., Nowicka D., Czopowicz M., Szaluś-Jordanow O., Bagnicka E., 2011 - *Case-control studies on the occurrence of the neurologic form of caprine arthritis-encephalitis in Poland*, Medycyna Wet.vol. 67, nr.4, p. 263-266.
140. Karanikolaou K., Angelopoulou K., Papanastasiopoulou M., Koumpati-Artopiou M., Papadopoulos O., Koptopoulos G., 2005 - *Detection of small ruminant lentiviruses by PCR and serology tests in field samples of animals from Greece*. Small Rum. Res., vol. 58, p. 181–187.
141. Karr B.M., Chebloune Y., Leung K., Narayan O., 1996 - *Genetic characterization of two phenotypically distinct North American ovine lentiviruses and their possible origin from caprine arthritis-encephalitis virus*. Virology, vol. 225, p. 1–10.
142. Keen J., Kwang J., Rosati S., 1995 - *Comparison of ovine lentivirus detection by conventional and recombinant serological methods*. Vet. Immunol. Immunopathol., vol. 47, p. 295-309.
143. Kennedy-Stoskopf S., Narayan O., 1986 - *Neutralizing antibodies to visna lentivirus: mechanism of action and possible role in virus persistence*, J Virol, vol. 59, p. 37–44.
144. Kertayadnya G., Wilcox G.E., Soeharsono S., Hartaningsih N., Coelen R.J., Cook R.D., Collins M.E., Brownlie J., 1993 - *Characteristics of a retrovirus associated with Jembrana disease in Bali cattle*. J. Gen. Virol. vol. 74, nr.9, p. 1765-1778.
145. Knowles D.P., McGuire T.C., Cheevers W.P., 1992 – *Caprine Arthritis Encephalitis*. In: Veterinary Diagnostic Virology. A Practitioner's Guide, Castro, A.E. and W.P. Heuschele (Eds.). Mosby Year Book Inc., Missouri, U.S.A., ISBN-13: 9780801663963, p. 202-205.
146. Konishi M., Tsuduku S., ş.a., 2004 - *An epidemic of caprine arthritis encephalitis in Japan: isolation of the virus*. J Vet Med Sci vol. 66, nr. 8, p. 911–917.
147. Konishi M., Nagura Y., Takei N., Fujita M., Hayashi K., Tsukioka M., Yamamoto T., Kameyama K., Sentsui H., Murakami K., 2011 - *Combined eradication strategy for CAE in a dairy goat farm in Japan*. Small Rumin. Res. vol. 99, p. 65–71.
148. Krieg A., Peterhans E., 1990 – *Caprine arthritis-encephalitis in Switzerland: epidemiologic and clinical studies*. Schweiz Arch Tierheilkd, vol. 132, nr. 7, p. 345-352.
149. Kuhar Urška, Barlic-Maganja Darja, Grom J., 2013 - *Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses detected in Slovenia*. Vet. Microbiol., vol. 162, nr. 1, p. 201-206.
150. Kuzmac J., Rola M., Gallay K., Chebloune Y., 2007 - *Molecular characterization of lentiviruses from goats from Poland based on gag gene sequence analysis*. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis., vol. 30, p. 211–223.
151. L'Homme Y., Ouadani M., Levesque V., Bertonni G., Simard C., Pisoni G., 2011 - *Molecular characterization and phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses isolated from Canadian sheep and goats*. Virol. J. 2011, vol. 8, p. 271-278.
152. Laamanen I., Jakava-Viljanen M., Sihvonen L., 2007 - *Genetic characterization of maedi-visna virus (MVV) detected in Finland*. Vet. Microbiol., vol. 122, p. 357–365.
153. Larruskain, A., Jugo, B.M., 2013. *Retroviral infections in sheep and goats: small ruminant lentiviruses and host interaction*. Viruses vol. 5, p. 2043–2061.
154. Lechner F., Vogt H.R., Seow H.F., Bertonni G., Cheevers W.P., von Bodungen U., ş.a., 1997 - *Expression of cytokine mRNA in lentivirus-induced arthritis*. Am. J. Pathol., vol. 151, p. 1053–65.
155. Leitner G., Krifucks O., Weisblit L., Lavi Y., Bernstein S., Merin U., 2010, *The effect of caprine arthritis encephalitis virus infection on production in goats*. Vet J, vol. 183, nr. 3, p. 328-331.
156. Leroux C., Vuillermoz S., Mornex J.F., Greenland T., 1995 - *Genomic heterogeneity in the pol region of ovine lentiviruses obtained from bronchoalveolar cells of infected sheep from France*. J. Gen. Virol. 1995, 76, 1533–1537.

157. Leroux C., Greenland T., Mornex J.F., 1996 - *Molecular characterization of field isolates of lentiviruses of small ruminants*. AIDS Res. Hum. Retroviruses, vol. 12, p. 427–429.
158. Leroux C., Lerondelle C., Chastang J., ș.a., 1997a - *RT-PCR detection of lentiviruses in milk or mammary secretions of sheep or goats from infected flocks*. Vet Res. vol. 28, p. 115-121.
159. Leroux C., Chastang J., Greenland T., Mornex J.F., 1997b - *Genomic heterogeneity of small ruminant lentiviruses: Existence of heterogeneous populations in sheep and of the same lentiviral genotypes in sheep and goats*. Arch. Virol., vol. 142, p. 1125–1137.
160. Leroux C., Cruz J.C., Mornex J.F., 2010 - *SRLVs: a genetic continuum of lentiviral species in sheep and goats with cumulative evidence of cross species transmission*. Curr -HIV Res, vol. 8, p. 94–100.
161. Li Y., Zhou F., Li X., Wang J., ș.a., 2013 - *Development of TaqMan-based qPCR method for detection of caprine arthritis–encephalitis virus (CAEV)infection*. Arch. Virol., vol. 158, p. 2135-2141.
162. Lin Y.Z., Shen R.X., Zhu Z.Y., Deng X.L., Cao X.Z., Wang X.F., ș.a., 2011 - *An attenuated EIAV vaccine strain induces significantly different immune responses from its pathogenic parental strain although with similar in vivo replication pattern*. Antiviral. Res., vol. 92, nr. 2, p. 292-304.
163. Lujan L., Badiola J.J., García-Marín J.F., Moreno B., Vargas M.A., Fernandez de Luco D., Perez V., 1993 - *Seroprevalence of maedi-visna infection in sheep in the north-east of Spain*. Prev. Vet. Med. vol. 15, p. 181–190.
164. Marsh H., 1923- *Progressive Pneumonia in Sheep*, Journal of the American Veterinary Medical Association, vol.15, p. 458-473.
165. Martinez-Navalon B., Peris C., Gomez E.A., Peris B., Roche M.L., Caballero C., Goyena E., Berriatua E., 2013 - *Quantitative estimation of the impact of caprine arthritis encephalitis virus infection on milk production by dairy goats*. The Veterinary Journal, vol. 197, nr. 2, p. 311-317.
166. McGuire T.C., Adams D.S., Johnson G.C., Klevjer-Anderson P., Barbee D.D., Gorham J.R., 1986 - *Acute arthritis in caprine arthritis–encephalitis virus challenge exposure of vaccinated or persistently infected goats*. Am. J. Vet. Res. vol. 47, p. 537–540.
167. McGuire T.C., 1987 - *The immune response to viral antigens as a determinant of arthritis in caprine arthritis–encephalitis virus infection*. Vet. Immunol. Immunopathol., vol. 17, p. 465–470.
168. McNeilly T.N., Tennant P., Lujan L., Perez M., Harkiss G.D., 2007 - *Differential infection efficiencies of peripheral lung and tracheal tissues in sheep infected with Visna/maedi virus via the respiratory tract*. J. Gen. Virol., vol. 88, p. 670–679.
169. McNeilly T.N., Baker A., Brown J.K., Collie D., Maclachlan G., Rhind S.M., ș.a., 2008 - *Role of alveolar macrophages in respiratory transmission of visna/maedi virus*. J Virol, vol. 82, p. 1526–1536.
170. Mehta P.D., Thormar H., 1974 - *Neutralizing activity in isolated serum antibody fractions from visna-infected sheep*, Infect Immun, vol. 10, p. 678–680.
171. Mettler F., Engels M., Wild P., Bivetti A., 1979 - *Herpesvirus infection in kids in Switzerland*, Schweiz. Arch. Tierheilkd. vol. 121, p. 655– 662.
172. **Mihai Iuliana**, Velescu Elena, Tanase Oana-Irina, Rusu Oana-Raluca, 2016 - *Epidemiological study of the respiratory infectious pathology in goats in north-eastern romanian region*, Lucrări Științifice USAMV Iași – seria Medicină Veterinară, Ed. "Ion Ionescu de la Brad" Iași, Vol.58, nr.18, pg.551-553.
173. **Mihai Iuliana**, Tipisca Marinela, Ursache Gabriela, Tanase Oana-Irina, Velescu Elena, 2017 - *Kids goitre: case study*, Lucrări Științifice USAMV Iași – seria Medicină Veterinară, Ed. "Ion Ionescu de la Brad" Iași, Vol.60, nr.19, pg. 449-453.
174. **Mihai Iuliana**, Crivei Ioana Cristina, Horhogeia Cristina, Savuța Gh., Velescu Elena, 2018 - *Preliminary serological investigation on caprine arthrithis and encephalitis virus infection in a goat farm from north-eastern romanian region*, Bulletin Of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine, vol.75, nr. 2, 243-245.
175. **Mihai Iuliana**, Velescu Elena, Tanase Oana-Irina, 2018 - *Epidemiological observations on Infectious Pathology of Goats in the Northeast Area of Romania*, Published in Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine, Vol. LXI, Bucuresti,. Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine, vol. 61, p. 139-
176. Minardi da Cruz, J.C., Singh, D.K., Lamara, A., Chebloune, Y., 2013 - *Small ruminant lentiviruses (SRLVs) break the species barrier to acquire new host range*. Viruses 5, p.1867–1884.
177. Minguijona E., Reinab R., Perez M. , L. Polledod , M. Villoria , H. Ramírez , I. Leginagoikoa , J.J. Badiolaf , J.F. García-Marínd , D. de Andrésb , L. Lujánf , B. Amorenab , R.A. Justea, 2015 - *Small ruminant lentivirus infections and diseases*. Veterinary Microbiology, vol. 181, p. 75–89.
178. Mircean M., Scurtu I., Popovici C., 2017 – *Ultrasonografia în diagnosticul bolilor interne la carnivorele domestice și cabaline*. Editura Risoprint, Cluj Napoca.
179. Modolo J.R., Stachissini A.V.M., CastroR.S., Ravazzolo A.P., 2003 - *Planejamento de saúde animal para o controle da artrite-encefalite caprina*. Gráfica Santana, Cultura Acadêmica, Botucatu, p.78.
180. Moga Mânzat R., 2005- *Boli Virotice si Prionice ale Animalelor*. Editura Brumar, Timisoara.

181. Muz D., Oguzoglu T.C., Rosati S., Reina R., Bertolotti L., Burgu I., 2013 - First molecular characterization of visna/maedi viruses from naturally infected sheep in Turkey. *Arch. Virol.*, vol. 158, nr.3, p. 559-570.
182. Narayan O., Cork L.C., 1985 - *Lentiviral Diseases of Sheep and Goats: Chronic Pneumonia Leukoencephalomyelitis and Arthritis. Reviews of Infectious Diseases*, vol. 7, p. 89-98.
183. Narayan O., Kennedy-Stoskopf S., Sheffer D., Griffin D.E., Clements J.E., 1983 - *Activation of caprine arthritis-encephalitis virus expression during maturation of monocytes to macrophages*. *Infect. Immun.* vol. 4, p. 67-73.
184. J., Cork L., Griffin D., 1980 - *Biological characterization of the virus causing leukoencephalomyelitis and arthritis in goats*. *J Gen Virol*, vol. 50, p. 69-79.
185. Narayan O., Kennedy-Stoskopf S., Zink M.C., 1988 - *Lentivirus/Host interactions: Lessons from Visna and Caprine Arthritis-Encephalitis Viruses*. *Ann Neurol*, vol. 23, p. 95-100.
186. Narayan O., Cork L., 1990, *Caprine arthritis-encephalitis virus*. *Virus Infectious of Ruminants* (Dinter, Z. and Morein, B. eds), Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, The Netherlands, ISBN-13:9780444427106, p. 441-452.
187. Nathanson N., Panitch H., Palsson P.A., Petursson G., Georgsson G., 1976 - *Pathogenesis of visna. II. Effect of immunosuppression upon early central nervous system lesions*. *Lab. Invest.*, vol. 35, p. 444-451.
188. Nathanson N., Martin J.R., Georgsson G., Palsson P.A., Lutley R.E., Petursson G., 1981 - *The effect of post-infection immunization on the severity of experimental visna*. *J. Comp. Pathol.* Vol. 91, p. 185-191.
189. Nenci C., Zahno M.L., Vogt H.R., Obexer-Ruff G., Doherr M.G., Zanoni R., ș.a., 2007 - *Vaccination with a T-cell-priming Gag peptide of caprine arthritis encephalitis virus enhances virus replication transiently in vivo*. *J. Gen. Virol.* vol. 88, p.1589-1593.
190. Niesalla H., McNeilly T.N., Ross M., Rhind S.M., Harkiss G.D., 2008 - *Experimental infection of sheep with visna/maedi virus via the conjunctival space*. *J Gen Virol*, vol. 89, p. 1329-1337.
191. Niesalla H., de Andres X., Barbezange C., Fraissier C., Reina R., Arnarson H., ș.a., 2009 - *Systemic DNA immunization against ovine lentivirus using particle-mediated epidermal delivery and modified vaccinia Ankara encoding the gag and/or env genes*. *Vaccine*. vol. 27, p. 260-269.
192. Nogueira D.M., Pinheiro R.R., Alves F.S., 2009, *Artrite encefalite caprina viral: um alerta aos produtores*. *Sobral: Embrapa Caprinos*, nr. 139, p. 1-5.
193. Nord K., Rimstad E. ș.a., 1998 - *Prevalence of antibodies against caprine arthritis-encephalitis virus in goat herds in Norway*. *Small Rumin Res* vol. 28, p. nr. 2, p. 115-121.
194. O'Sullivan B.M., 1978 - *Leucoencephalomyelitis of goat kids*. *Australian Veterinary Journal*, vol. 54, p. 479-483.
195. Oem J.K., Chung J.Y. ș.a., 2012 - *Large-scale serological survey of caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) in Korean Black Goats (Capra hircus aegagrus)*. *J Vet Med Sci*, vol. 74, nr. 12, p. 1657-1659.
196. Ojosnegros S., Perales C., Mas A., Domingo E., 2011 - *Quasispecies as a matter of fact: Viruses and beyond*, *Virus Res.*, 162, p. 203-215.
197. Olech M., Rachid A., Croise B., Kuzmak J., Valas S., 2011 - *Genetic and antigenic characterization of small ruminant lentiviruses circulating in Poland*. *Virus Res.*, vol. 163, p. 528-536.
198. Oliver R.E., Adams D.S., Horham J.R., Julian A.F., McNiven R.A., Muir J., 1982 - *Isolation of caprine arthritis encephalitis virus from a goat*. *New Zealand Veterinary Journal*, vol. 30, p. 147-149.
199. Olmsted R.A., Langley R., Roelke M.E., Goeken R.M., Adger-Johnson D., Goff J.P., Albert J.P., Packer C., Laurenson M.K., Caro T.M., ș.a., 1992 - *Worldwide prevalence of lentivirus infection in wild feline species: epidemiologic and phylogenetic aspects*. *J Virol* vol. 66, p. 6008-6018.
200. Oskarsson T., Hreggvidsdottir H.S., Agnarsdottir G., Matthiasdottir S., Ogmundsdottir M.H., Jonsson S.R., ș.a., 2007 - *Duplicated sequence motif in the long terminal repeat of maedi-visna virus extends cell tropism and is associated with neurovirulence*, *J. Virol.*, vol. 81, p. 4052-4057.
201. Palsson P.A., 1976 - *Maedi and visna in sheep*. *Front Biol.* vol. 44, p. 17-43.
202. Palsson P.A., 1978 - *Maedi/visna: a slow virus disease*. *Bull. Off. Int. Epiz.* vol. 89, p. 465-475.
203. Palsson P.A., 1983- *Maedi/visna of sheep in Iceland. Introduction of the disease to Iceland, clinical features, control measures and eradication. Slow Viruses in Sheep, Goats and Cattle*. Martinus Nijhof for the European Commission, Luxembourg, p. 3-19.
204. Panitch H., Petursson G., Georgsson G., Palsson P.A., Nathanson N., 1976 - *Pathogenesis of visna. III. Immune responses to central nervous system antigens in experimental allergic encephalomyelitis and visna*. *Lab. Invest.*, vol. 35, p. 452-460.
205. Park J.E., Son S.Y., Shin H.J., 2010 - *Sequence comparison on gag gene of caprine arthritis encephalitis virus from Korea*. *Virus Genes*, vol. 41, p. 99-101.
206. Pasick J., 1998 - *Maedi-visna virus and caprine arthritis-encephalitis virus: distinct species or quasispecies and its implications for laboratory diagnosis*. *Can. J. Vet. Res.* 1998, vol. 62, nr. 4, p. 241-244.

207. Paula N.R.O., Andrioli A., Cardoso J.F.S., Pinheiro R.R., Sousa F.M.L., Souza K.C., ş.a., 2009 - *Profile of the Caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) in blood, semen from bucks naturally and experimentally infected in the semi-arid region of Brazil*. Small Rumin. Res., vol. 85, p. 27–33.
208. Perez M., Munoz J.A., Biescas E., Salazar E., Bolea R., de Andrés D., Amorena B., Badiola J.J., Reina R., Lujan L., 2013 - *Successful visna/maedi control in a highly infected ovine dairy flock using serologic segregation and management strategies*. Prev. Vet. Med. vol. 112, p. 423–427.
209. Perianu T. ş.a., 2012 – *Boli infecţioase ale animalelor, Viroze* – Vol II, Ed.Casa de editură Venus, Iaşi.
210. Perk K., 1995 - *Characteristics of Ovine and Caprine Lentivirus Infections*. Leukemia vol. 9, p. 98–100.
211. Peluso R., Haase A., Stowring L., Edwrds M., Ventura P., 1985 – *A Trojan Horse mechanism for the spread of visna virus in monocytes* Virology, vol. 147, p. 231–236.
212. Peterhans E., Greenland T., Badiola J., Harkiss G., Bertonni G., Amorena B., Eliasiewicz M., Juste R., A. Kraßnig R., Lafont J. P., Lenihan P., Pétursson G., Pritchard G., Thorley J., Vitu C., Mornex J. F., Pépin M., 2004 - *Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes*. Vet Res, vol. 35, nr. 3, p. 257–274.
213. Peterson K., Brinkhof J., Houwers D.J., Colenbrander B., Gadella B.M., 2008 - *Presence of pro-lentiviral DNA in male sexual organs and ejaculates of small ruminants*. Theriogenology, vol. 69, p. 433–442.
214. Petropoulos C., 1997 - *Retroviral taxonomy, protein structures, sequences and genetic maps*. In: Coffin J. M.; Hughes S. H.; Varmus, H. E. (Ed.). Retroviruses. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory. Available from: . Viewed: 7 Feb. 2015.
215. Petursson G., Andréðdóttir V., Andrésson O.S., Georgsson G., Pálsson P.A., Rafnar B., Torsteinsdóttir S., 1992 - *Lentivirus diseases of sheep and goats: maedi-visna and caprine arthritis-encephalitis*. In: Speedy, A.W. (Ed.), Progress in Sheep and Goat Research. CAB International, Oxford, p. 107–129.
216. Petursson G., 1994 - *Experience with visna virus in Iceland*. Ann. N. Y. Acad. Sci. vol. 724, p. 43–49.
217. Petursson G., Matthiasdóttir S., Svansson V., Andresdottir V., Georgsson G., Martin A.H., ş.a., 2005 - *Mucosal vaccination with an attenuated maedi-visna virus clone*. Vaccine. vol. 23, p. 3223–3228.
218. Phelps S.L., Smith M.C., 1993 - *Caprine arthritis-encephalitis virus infection*. J. Am. Vet. Med. Assoc. vol. 203, p. 1663–1666.
219. Pisoni G., Quasso A., Moroni P., 2005 - *Phylogenetic analysis of small ruminant lentivirus subtype B1 in mixed flocks: evidence for natural transmission from goats to sheep*. Virology, vol. 339, p.147–152.
220. Pisoni G., Bertonni G., Puricelli M., Maccalli M., Moroni P., 2007- *Demonstration of coinfection with and recombination by caprine arthritis-encephalitis virus and MaediVisna virus in naturally infected goats*. Journal of Virology, vol. 81, p. 4948–4955.
221. Pisoni G., Bertonni G., Manarolla G., Vogt H.R., Scaccabarozzi L., Locatelli C., Moroni P., 2010 - *Genetic analysis of small ruminant lentiviruses following lactogenic transmission*. Virology, vol. 407, p. 91–99.
222. Plaza M., Sánchez A., Corrales J.C., ş.a., 2009 - *Contreras A. Caprine arthritis encephalitis virus diagnosed by ELISA in lactating goats using milk samples*. Small Rumin. Res., vol. 81, p. 189–192.
223. Plummer P.J., L. Plummer L. Cassandra, Still M. Kelly, 2012 – *Sheep and Goat Medicine*, second edition, *Diseases of the Respiratory System*, p. 126–149.
224. Polledo L., Gonzalez J., Benavides J., Morales S., Martinez-Fernandez B., Delgado L., Reina R., Glaria I., Perez V., Ferreras M.C., Garcia-Marin, J.F., 2011 - *Patterns of lesion and local host cellular immune response in natural cases of ovine maedivisna*. J. Comp. Pathol. vol. 147 p. 1–10.
225. Polledo L., Gonzalez J., Benavides J., Martinez-Fernandez B., Ferreras M.C., Marin J.F., 2012 - *Perivascular inflammatory cells in ovine visna/maedi encephalitis and their possible role in virus infection and lesion progression*. J. Neurovirol. vol. 18, p. 532–537.
226. Pringle, C.R., 1999 - *Virus taxonomy. The universal system of virus taxonomy, updated to include the new proposals ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses during 1998*. Arch Virol vol. 144, p. 421–429.
227. Qu J., Liu H. ş.a., 2005 - *Current situation of research on caprine arthritis encephalitis*. Chin. J. Prev. Med., vol. 27, nr. 5, p. 431–434.
228. Qu J., Guo W., Zhao L., Sheng R., Xiang W., 2005 - *The gene cloning and sequence analysis of the whole genome of Caprine Arthritis Encephalitis virus (CAEV) GANSU strain*. Chin. J. Virol., vol. 21, p. 389–392.
229. Querat G., Audoly G., Sonigo P., Vigne R., 1990 - *Nucleotide sequence analysis of SA-OMVV, a visna-related ovine lentivirus: Phylogenetic history of lentiviruses*. Virology, p. 175, p. 434–447.
230. Rajya B.S., Singh C.M., 1964 - *The pathology of pneumonia and associated respiratory disease of sheep and goats, occurrence of Jagzieke and Maedi in sheep and goats in India*, American Journal of Veterinary Research, vol. 25, p. 61–67.

231. Ramirez H., Glaria I., de Andres X., Martinez H.A., Hernandez M.M., Reina R., Iraizoz E., Crespo H., Berriatua E., Vazquez J., ș.a., 2011 - *Recombinant small ruminant lentivirus subtype B1 in goats and sheep of imported breeds in Mexico*. Vet. J. vol. 190, p. 169–172.
232. Ramirez H., Reina R., Amorena Beatriz, de Andrés D., Martínez H.A., 2013 - *Small Ruminant Lentiviruses: Genetic Variability, Tropism and Diagnosis*. Viruses, vol. 5, p. 1175-1207.
233. Ratanapob N.T., Rukkwamusk T., Jala S., 2009 – *Seroprevalence of caprine arthritis encephalitis virus infection in goats raised in the Central part and Western part of Thailand*. Proceedings of the 47th Kasetsart University Annual Conference, Bangkok, Thailand, p. 62,69.
234. Ratanapob N.T., Rukkwamusk T., 2012 – *Culture and Identification of Goat Synovial Membrane Cells for Caprine Arthritis Encephalitis Virus Diagnosis*, J. Anim. Vet. Adv., vol. 11, nr. 11, p. 1827-1830.
235. Ravazzolo A.P., Reischak D., Peterhans E., Zanon R., 2001 - *Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses from Southern Brazil*, Virus Res., vol.79, p.117–123.
236. Ravazzolo A.P., Nenci C., Vogt H.R., Waldvogel A., Obexer-Ruff G., Peterhans E., ș.a., 2006 - *Viral load, organ distribution, histopathological lesions, and cytokine mRNA expression in goats infected with a molecular clone of the caprine arthritis encephalitis virus*. Virology, vol. 350, p. 116–127.
237. Ravazzolo A.P., Costa U., 2007 - *Retroviridae*. In: Ravazzolo, A. P.; Costa, U.; Flores, E. F. - *Virologia veterinária*. Santa Maria: UFSM. p. 809-830.
238. Reichert M., Kozaczyński W., 2001 – *Preliminary results of comparison of ELISA and PCR methods in the diagnosis of caprine arthritis-encephalitis virus infection*. Med Weter, vol. 57, p. 44 – 49.
239. Reina R., Mora M.I., Glaria I., ș.a., 2006 - *Molecular characterization and phylogenetic study of Maedi Visna and Caprine Arthritis Encephalitis viral sequences in sheep and goats from Spain*. Virus Res, vol. 121, p. 189-198.
240. Reina R., Glaria I., Benavides J., de Andres X., Crespo H., Solano C., ș.a., 2007 - *Association of CD80 and CD86 expression levels with disease status of Visna/Maedi virus infected sheep*. Viral Immunol., vol. 20, p. 609–622.
241. Reina R., Barbezange C., Niesalla H., de Andres X., Arnarson H., Biescas E., ș.a., 2008 - *Mucosal immunization against ovine lentivirus using PEIDNA complexes and modified vaccinia Ankara encoding the gag and/or env genes*. Vaccine. vol. 26, p. 4494–4505.
242. Reina R., Grego E., Bertolotti L., De Meneghi D., Rosati S., 2009 - *Genome analysis of small ruminant lentivirus genotype E: A caprine lentivirus with natural deletions of the dUTPase subunit, vpr-like accessory gene, and 70-base-pair repeat of the U3 region*. J. Virol., vol. 83, p. 1152–1155.
243. Reina R., Bertolotti L., Dei Giudici S., Puggioni G., Ponti N., Profiti M., Patta C., Rosati S., 2010 - *Small ruminant lentivirus genotype E is widespread in Sarda goat*. Vet. Microbiol., vol. 144, p. 24–31.
244. Remond M., Larenaudi B., Boutrouille A., Bouchard N., 1985 - *Maedi Visna infection in France. Results of serological examinations and trial of eradication*. In: Sharp, J.M., Hoff-Jorgensen, R. (Eds.), *Slow Viruses in Sheep, Goats and Cattle*. Martinus Nijhof for the European Commission, Luxembourg, p. 297–304.
245. Richardson J., Moraillon A., Baud S., Cuisinier A.M., Sonigo P., Pancino G., 1997 - *Enhancement of feline immunodeficiency virus (FIV) infection after DNA vaccination with the FIV envelope*. J. Virol. vol. 71, p. 9640–9649.
246. Rimstad E., East N.E., Torten M., Higgins J., DeRock E., Pedersen N.C., 1993 - *Delayed seroconversion following naturally acquired caprine arthritis-encephalitis virus infection in goats*, American Journal of Veterinary Research, vol. 54, p. 1858-1862.
247. Roberts J.D., Bebenek K., Kunkel T.A., 1988 - *The accuracy of reverse transcriptase from HIV-1*, Science, 242, p. 1171–1173.
248. Rodrigues A.S., Brito R.L.L., Pinheiro R.R., ș.a., 2014 - *Padronização do Elisa indireto e Western Blot para diagnóstico da artrite-encefalite caprina*. Arq Bras Med Vet Zootec.; vol. 66, p. 417-424.
249. Rolland M., Mooney J., Valas S., ș.a., 2002 - *Characterisation of an Irish caprine lentivirus strain—S.RLV phylogeny revisited*. Virus Res., vol. 85, p. 29–39.
250. Rowe J.D., East N.E., Thurmond M.C., Franti C.E., 1991 - *Risk factors associated with caprine arthritis-encephalitis virus infection in goats on California dairies*. Am. J. Vet. Res. vol. 52, p. 510–514.
251. Rowe J.D., East N.E., Franti C.E., Thurmond M.C., Pedersen N.C., Theilen G.H., 1992b - *Risk factors associated with the incidence of seroconversion to caprine arthritis encephalitis virus infection in goats on a California dairy*. American Journal of Veterinary Research, vol. 53, nr. 12, p. 2396-2403.
252. Rowe J.D., East N.E., 1997 - *Risk factors for transmission and methods for control of caprine arthritis-encephalitis virus infection*. Vet Clin North Am Food Anim Pract. vol. 13, p. 35-53.
253. Russo P., Vitu C., Fontaine J.J., Vignoni M., 1993 - *Caprine arthritis-encephalitis: trial of an adjuvant vaccine preparation. I. Clinical and virological study*. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. vol. 16, p. 131–136.

254. Rutkoski Juliana Klein, Werenicz R., Reischak Dilmara, Wendelstein Ana Cristina da Silva, Moojen Valeria, Ravazzolo Ana Paula., 1998 - *Utilizaçã o da Técnica da PCR para detecçã o do vírus da Artrite-Encefalite Caprina*. In: Anais do Décimo Salão de Iniciaçã o Científica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1998, Porto Alegre, Brasil., p. 96.
255. Ryan S., McConnell I., Blacklaws B., 2007 – *Infection of dendritic cells by Maedi-Visna lentivirus*. J. Virol. vol.74, p. 10096-10103.
256. Sanchez A., Contreras A. ş.a., 2001 - *Relationships between infection with caprine arthritis encephalitis virus, intramammary bacterial infection and somatic cell counts in dairy goats*. Vet. Rec. vol. 148, nr. 23, p. 711–714.
257. Sanna E., Sanna M.P., Vitali C.G., Renzoni G., Sanna L., Spano S., Rossi G., Leoni A., 1999 – *Proviral DNA in the brains of goats infected with caprine arthrithis-encephalitis virus*. J. Comp. Pathol. vol.131, p. 271-276.
258. Santry L.A., Jonga J., Golda A.C., Walsha S.R., Menzies P.I., Wootton S.K., 2013 -*Genetic characterization of small ruminant lentiviruses circulating in naturally infected sheep and goats in Ontario, Canada*. Virus Research, vol. 175, nr. 1, p. 30- 44.
259. Sardi S.I., Sena G.S.R., Campos G.S., Santos G.R., Maia Neto A.L., Avila L.N., 2012 - *Ocorrência de lentivírus de pequenos ruminantes no semiárido baiano e perfil da caprino/ ovinocultura na região*. Ciência Animal Brasileira, vol. 13, nr. 4, p. 494-503.
260. Sargan D.R., Bennet I.D., Cousens C., Roy D.J., Blacklaws B.A., Dalziel R.G., Watt N.J., McConnell I., 1991 - *Nucleotide sequence of EV1, a British isolate of maedi-visna virus*. J. Gen. Virol., vol. 72, p. 1893–1903.
261. Savuța Gheorghe, 2007, *Epidemiologie veterinară*, Ed. PIM, Iași.
262. Schaller P., Vogt H.R., Strasser M., ş.a., 2000 - *Seroprevalence of maedi-visna and border disease in Switzerland*. Schweiz. Arch. Tierheilkd., vol. 142, p. 145-153.
263. Schipper I.A., Light M.R., Ludeman L., 1985 - *Control of ovine progressive pneumonia (OPP)*. N. Dakota Farm. Res. vol. 43, p. 30–31.
264. Schoborg R.V., 2014 - *Analysis of caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) temporal gene expression in infected cells*. Virus Research, vol. 90, nr. 1-2, p. 37-46.
265. Shah C.; Böni J.; Huder J. B.; Vogt H. R.; Mühlherr J.; Zanoni R.; Miserez R.; Lutz H.; Schüpbach J., 2004a - *Phylogenetic analysis and reclassification of caprine and ovine lentiviruses based on 104 new isolates: evidence for regular sheep-to-goat transmission and worldwide propagation through livestock trade*. Virology, v. 319, n. 1, p. 12-26.
266. Shah C., Huder J.B., Böni J., ş.a., 2004b - *Direct evidence for natural transmission of small ruminant lentiviruses of subtype A4 from goats to sheep and vice versa*. J. Virol. vol. 78, p. 7518–7522.
267. Sherman D.M., 1973 - *Viral Leukoencephalomyelitis in two Minnesota goats*. Veterinary Medicine, Small Animal Clinician, vol. 73, p. 1439-1440.
268. Sider L.H., Heaton,M.P., Chitko-Mckown C.G., Harhay G.P., Smith T.P., Leymaster K. A., Laegreid W.W., Clawson M.L., 2013 - *Small ruminant lentivirus genetic subgroups associate with sheep TMEM154 genotypes*. Vet. Res. vol. 44, p. 64.
269. Sigurdsson B., Grimsson H., Palsson P.A., 1952 - *Maedi, a chronic, progressive infection of sheep's lungs*, The Journal of Infectious Disease, vol. 90, p. 233-241.
270. Sigurdson B., Palsson P.A., Grimsson H., 1957 – *Visna, a demienatting transmissible disease of sheep*. J. Neuropathol. Exp. Neurol. vol. 16, p. 390-403.
271. Sigurdsson B., Thormar H., Palsson P.A., 1960 - *Cultivation of Visna Virus in Tissue Culture*, Archiv fur die gesamte Virusforschung, vol. 10, p. 368-381.
272. Sigurdssoon B., Thormar H., 1964 - *Isolation of a Viral Agent from the Lungs of Sheep Affected with Maedi*, The Journal of Infectious Disease, vol. 114, p. 55-60.
273. Sihvonen L., Nuotio L., Rikula U., Hirvela-Koski V., Kokkonen U., 2000 - *Preventing the spread of maedi-visna in sheep through a voluntary control programme in Finland*. Prev. Vet. Med. vol. 47, p. 213–220.
274. Sihvonen L., Estola T., Tuomi J., 1980 - *Experimental maedi infection in sheep. 1. Detection of virus, clinical course, histopathology*. Acta. Vet. Scand. vol. 21, p. 113-123.
275. Singh I., McConnell I., Dalziel R., Blacklaws Barbara, 2006 - *Serum containing ovine IgG2 antibody specific for maedi visna virus envelope glycoprotein mediates antibody dependent cellular cytotoxicity*, Vet Immunol Immunopathol, vol. 113, p. 357–366.
276. Small J.A., Bieberich C., Ghotbi Z., Hess J., Scangos G.A., Clements J.E., 1989 - *The visna virus long terminal repeat directs expression of a reporter gene in activated macrophages, lymphocytes, and the central nervous systems of transgenic mice*, J Virol, vol. 63, p. 1891–1896.

277. Sonigo P., Alizon M., Staskus K., Klatzmann D., Cole S., Danos O., Retzel E., Tiollais P., Haase A., Wain-Hobson S., 1985 - *Nucleotide sequence of the visna lentivirus: Relationship to the AIDS virus*. Cell., vol. 42, p. 369–382.
278. Staskus K.A., Retzel E.F., Lewis E.D., Silsby J.L., St Cyr S., Rank J.M., Wietgreffe S.W., Haase A.T., Cook R., Fast D., ș.a., 1991 - *Isolation of replication-competent molecular clones of visna virus*. Virology, vol. 181, p. 228–240.
279. Synge B.A., Ritchie C.M., 2010 - *Elimination of small ruminant lentivirus infection from sheep flocks and goat herds aided by health schemes in Great Britain*. Vet. Rec. Vol. 167, nr. 19, p. 739–743.
280. Tanase Irina-Oana, 2015 - *Boli infecțioase ale animalelor : îndrumător de lucrări practice*, Editura Ion Ionescu de la Brad, Iași
281. Tiley L.S., Brown P.H., Le S.Y., Maizel J.V., Clements J.E., Cullen B.R., 1990 - *Visna virus encodes a post-transcriptional regulator of viral structural gene expression*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. vol. 87, p. 7497–7501.
282. Torres-Acosta J.F.J., Gutierrez E.J., Camara G.E., Lightsey J., 2003 - *Serological survey of caprine arthritis-encephalitis virus 83 goat herds of Yucatan, Mexico*. Small. Rum. Res. vol. 49, p. 207–211.
283. Torsteinsdottir S., Carlsdottir H.M., Svansson V., Matthiasdottir S., Martin A.H., Petursson G., 2007 - *Vaccination of sheep with Maedivisna virus gag gene and protein, beneficial or harmful?* Vaccine. vol. 25, p. 6713–6720.
284. Travassos C., Benoît C., Valas S., da Silva A.G., Perrin G., 1999 - *Caprine arthritis-encephalitis virus in semen of naturally infected bucks*. Small Rumin. Res., vol. 32, p. 101–106.
285. Trujillo J.D., Hotzel K.J., Snekvik K.R., Cheevers W.P., 2004 - *Antibody response to the surface envelope of caprine arthritis-encephalitis lentivirus: disease status is predicted by SU antibody isotype*. Virology. vol. 325, p. 129–136.
286. Uhl E.W., Heaton-Jones T.G., Pu R., Yamamoto J.K., 2002 - *FIV vaccine development and its importance to veterinary and human medicine: a review FIV vaccine 2002 update and review*. Vet Immunol Immunopathol., vol. 90, nr. 113–132.
287. Valas S., Benoit C., Guionaud C., Perrin G., Mamoun R.Z., 1997 - *North American and French caprine arthritis-encephalitis viruses emerge from ovine maedi-visna viruses*. Virology, vol. 237, p. 307–318.
288. van der Molen E.J., Howers D.J., 1987 - *Indurative lymphocytic mastitis in sheep after experimental infection with maedivisna virus*. Vet Q., vol. 9, p. 193–202.
289. VanMaanen C., Brinkhof J., Moll L., Colenbrander B., Houwers D.J., 2010 - *Aspects of the epidemiology, research, and control of lentiviral infections of small ruminants and their relevance to Dutch sheep and goat farming*, Tijdschr Diergeneeskd, vol. 135, p. 600–603.
290. Velescu Elena, 2002 - *Patologia bolilor infecțioase la animale*, Ed. Terra Nostra. Iași.
291. Villoria M., Leginagoikoa I., Lujan L., Perez M., Salazar E., Berriatua E., Juste R.A., Minguijon E., 2013 - *Detection of small ruminant lentivirus in environmental samples of air and water*. Small Rumin. Res. vol. 110, p. 155–160.
292. Vasiu C., 2003- *Viroze si Boli Prionice la Animale*, Editura Nereamia Napocae, Cluj Napoca.
293. Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press, San Diego, CA, p. 494.
294. Vulpe V., Meomartino L., Daraban C., 2014 - *Radiologie veterinară: manual practic*, Editura Performantica, Iași.
295. Wagter L.H., Jansen A., Bleumink-Pluym N.M., Lenstra J.A., Houwers D.J., 1998 - *PCR detection of lentiviral GAG segment DNA in the white blood cells of sheep and goats*. Vet. Res. Commun., vol. 22, p. 355–362.
296. White S.N., Knowles D.P., 2013 - *Expanding possibilities for intervention against small ruminant lentiviruses through genetic marker-assisted selective breeding*. Viruses vol. 5, p. 1466–1499.
297. Williams-Fulton N.R., Simard C.L., 1989 - *Evaluation of two management procedures for the control of maedi-visna*. Can. J. Vet. Res. vol. 53, p. 419–423.
298. World Organization for Animal Health (OIE), 2008 - *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees)* In: Health OWOfA, sixth edition, vol.1, p. 983–991.
299. Zanoni R.G., Nauta I.M., Pauli U., Peterhans E., 1991 - *Expression in Escherichia coli and sequencing of the coding region for the capsid protein of Dutch maedi-visna virus strain ZZV 1050: Application of recombinant protein in enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of caprine and ovine lentiviruses*. J. Clin. Microbiol., vol. 29, p. 1290–1294.
300. Zanoni R., Nauta I.M., Kuhnert P., Pauli U., Pohl B., Peterhans E., 1992 - *Genomic heterogeneity of small ruminant lentiviruses detected by PCR*. Vet. Microbiol., vol. 33, p. 241–351.
301. Zonani R.G., Cordano P., Nauta I.M., Peterhans E., 1996 - *PCR for the detection of lentiviruses from small ruminants*. Schweiz Arch. Tierheilkd. vol. 138, p. 93–98.

302. Zhang Z., Watt N.J., Hopkins J., Harkiss G., Woodall C.J., 2000 - *Quantitative analysis of maedi-visna virus DNA load in peripheral blood monocytes and alveolar macrophages*. J. Virol. Methods., vol. 86, p. 13–20.
303. Zhang Z., Harkiss G.D., Hopkins J., Woodall C.J., 2002 - *Granulocyte macrophage colony stimulating factor is elevated in alveolar macrophages from sheep naturally infected with maedi-visna virus and stimulates maedi-visna virus replication in macrophages in vitro*, Clin Exp Immunol, vol. 129, p. 240–246.
304. Zink M.C., Yager J.A., Myres J.D., 1990 - *Pathogenesis of caprine arthritis-encephalitis virus. Cellular localization of viral transcripts in tissues of infected goats*. Am. J. Pathol, vol. 136, nr. 4, p. 843-854.

ANEXA 1. LISTA ABREVIERILOR

ANNEX 1. LIST OF ABBREVIATIONS

µg- microgram	LTR = repetiții terminale lungi
µl = microlitru	LTh1 = limfocite T helper 1
µm = micrometru	LTh2 = limfocite T helper 2
ADCC = citotoxicitate celulară mediată de anticorpi	MA = matrice
ADN = acid dezoxiribonucleic	MCF = febra catarală malignă
AGID = test de imunodifuzie în gel de agar	MHz = mega Hertz
ALV = virusul leucozei aviare	min = minut
ANSVSA = Autorității Naționale Sanitare Veterinare și pentru Siguranța Alimentelor	MLV = <i>virusul leucemiei murine</i>
ARN = acid ribonucleic	mm = milimetru
ARNm = acid ribonucleic mesager	MMTV = <i>virusul tumoral mamar de șoarece</i>
BIV = <i>virusul imunodeficienței bovine</i>	MPMV = <i>virusul de maimuță-Mason-Pfizer</i>
BLV = <i>virusul leucemiei bovine</i>	MTC= colorație tricromică Masson
CA = proteină de capsidă	MVV = <i>virusul maedi visna</i>
CAE = artrită encefalită caprină	NCBI = National Center of Biotechnology Information
CAEV = <i>virusul artritei encefalitei caprine</i>	NC = proteină de nucleocapsidă
cADN = ADN complementar	nPCR = nested PCR
CSV = circumscripție sanitară veterinară	nt = nucleotidă
DB = test serologic Dot Blot	O.I.E. = Organizația Internațională de Epizootologie
dsADN = ADN dublucatenar	°C = grad Celsius
EDTA = Eethylenediaminetetraacetic acid	OPPV = <i>virusul pneumoniei progresive ovine</i>
EIA = <i>anemia infecțioasă ecvină</i>	PCR = Polimerase Chain Reaction
EIAV = <i>virusul anemiei infecțioase ecvine</i>	PI 3 = <i>virusul paraifluenței tip 3</i>
ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay	PLV = <i>lentivirusul puma</i>
FIV = <i>virusul imunodeficienței feline</i>	PBMC = periferic blood mononuclear cells
g = gram	PBL = periferic blood leucocyte
gp = glicoproteină	PR = protează
HIV = <i>virusul imunodeficienței umane</i>	RIA = radioimunoanaliză
HIV-1 = <i>virusul imunodeficienței umane tip 1</i>	RIP = radioimunoprecipitarea
ICTV = International Commite on Taxonomy of Viruses	rpm = rotații pe minut
IHC = imunohistochimie	RSV = <i>virusul sincițial respirator</i>
IFN I= interferon de tip I	RT = transcriptază inversă
IgA = imunoglobulina A	SFVcpz (hu) = <i>virusul spumos simian</i>
Ig G = imunoglobulina G	SIV = <i>virusul imunodeficienței simian</i>
Ig M = imunoglobulina M	SNC = sistem nervos central
IN = integrază	snPCR = seminested PCR
IP = promoter intern	SRLVs = <i>lentivirusuri ale rumegătoarelor mici</i>
JDV = <i>virusul bolii de Jembrana</i>	ssARN = ARN monocatenar
kb = kilobază	SU = proteină de suprafață
kDa = kilodalton	SUA= Statele Unite ale Americii
ml = mililitru	tARN = acid ribonucleic transportor
	TM = proteină transmembranară
	WB = testul Western Blotting
	WBC = white blood cells

ANEXA 2. LISTA TABELELOR

ANNEX 2. LIST OF TABLES

Tabelul 1.1 Distribuția genotipurilor și a subtipurilor SRLV în diferite regiuni ale globului	22
Tabelul 4.1 Tehnici de PCR, probe și regiuni ale genomului viral utilizate pentru detectarea infecției cu SRLVs	47
Tabelul 4.2 Strategii de control și combatere a SRLV în fermele de caprine	51
Tabelul 7.1 Probe recoltate în perioada 2014 – 2018	65
Tabelul 7.2 Dinamica efectivelor de caprine repartizată pe județe în perioada 2007-2017.....	66
Tabelul 7.3 Structura efectivelor de caprinelor pe județe și rase în anul 2015.....	67
Tabelul 7.4 Structura efectivelor de caprinelor pe județe și rase în anul 2016.....	68
Tabelul 7.5 Structura efectivelor de caprinelor pe județe și rase în anul 2017.....	68
Tabelul 7.6 Structura efectivului de caprinelor pe județe și pe rase în perioada 2014 -2018.....	68
Tabelul 7.7 Distribuția caprinelor examinate pe județe și pe sisteme de exploatare în perioada 2014 - 2018	70
Tabelul 7.8 Structura efectivelor de caprine examinate pe categorii de vârste și de sex în perioada 2014 -2018	70
Tabelul 7.9 Rezultatele examenelor clinice efectuate în perioada 2014-2018	71
Tabelul 7.10 Tipul patologiilor infecțioase caprine pe rase și categorii de vârste în perioada 2014 - 2018.....	72
Tabelul 7.11 Rezultatele examenelor bacteriologice efectuate în perioada 2014-2018 la caprinele cu simptome respiratorii	76
Tabelul 8.1 Repartizarea pe județe, categorii de vârstă și rase a probelor recoltate în perioada 2014-2018	80
Tabelul 8.2 Rezultatele testelor AGID obținute la screeningul inițial	83
Tabelul 8.3 Rezultatele testelor AGID obținute la retestare la 6 luni	84
Tabelul 8.4 Rezultatele obținute la testele AGID în perioada 2014 -2018	85
Tabelul 8.5 Distribuția rezultatelor pozitive pe județe și sistem de exploatare în perioada 2014-2018.	86
Tabelul 8.6 Prezența semnelor clinice corelate cu statusul serologic și categoria de vârstă	87
Tabelul 9.1 Categoriile de vârste și rasele luate în studiu în perioada octombrie 2014 – iunie 2018	91
Tabelul 9.2 Rezultatele examenelor clinice privind starea de sănătate pe categorii de vârste	92
Tabelul 9.3 Distribuția simptomelor în funcție de localizări raportată la categoria de vârstă	101
Tabelul 9.4 Distribuția simptomelor observate pe categorii de vârste și rase	103
Tabelul 11.1 Primerii utilizați în etapele nested PCR	141
Tabelul 11.2 Mix de reacție cu un volum final de 50 µl per probă folosit în prima rundă de amplificare.	142
Tabelul 11.3 Mix de reacție cu un volum final de 50 µl per probă folosit în runda a doua de amplificare	142
Tabelul 11.4 Rezultate testelor AGID și nested PCR.....	145
Tabelul 11.5 Mărimea secvențelor obținute pentru probele pozitive	148
Tabelul 11.6 Genotipurile și subtipurile SRLVs folosite pentru construcția arborelui filogenetic	150

ANEXA 3. LISTA FIGURILOR

ANNEX 3. LIST OF FIGURES

Figura 1.1 Analiza filogenetică a regiunilor conservate ale genei polimerază retrovirale	20
Figura 1.2 Arborele filogenetic pentru SRLV.....	21
Figura 1.3 Structura particulei retrovirale.....	24
Figura 1.4 Structura virionilor și a genomului lentivirusurilor de rumegătoare mici: (a) virioni, (b) genomul viral, (c) genomul virusului HIV-1, inclus pentru comparație.....	25
Figura 1.5 Ciclul de replicare a retrivirusurilor	27
Figura 2.1 Harta de distribuție a focarelor pentru CAE în perioada iulie-decembrie 2017.....	35
Figura 2.2 Patogeneza infecției naturale cu SRLVs	37
Figura 5.1 Harta administrativă a României.....	56
Figura 5.2 Model de adăposturi și construcțiile anexe din cadrul unei ferme de creștere a caprinelor specializate pentru lapte	59
Figura 5.3 Adăpost de formă dreptunghiulară cu alee centrală de furajare	60
Figura 5.4 Sala de muls dotată cu instalație de muls automată liniară	61
Figura 7.1 Evoluția efectivelor de caprine din România în perioada 2007-2017	63
Figura 7.2 Dinamica efectivelor de caprine repartizată pe județe în perioada 2007-2017	67
Figura 7.3 Structura efectivelor de caprine în funcție de rase în perioada 2014-2018	69
Figura 7.4 Structura efectivelor de caprine examinate pe categorii de vârstă și de sex în perioada 2014-2018	71
Figura 7.5 Rezultatele examenelor clinice efectuate în perioada 2014-2018	72
Figura 7.6 Distribuția patologiei infecțioase caprine pe rase și categorii de vârstă	73
Figura 7.7 Distribuția afecțiunilor infecțioase ale aparatului respirator pe rase și categorii de vârstă în perioada 2014-2018.....	73
Figura 7.8 Distribuția afecțiunilor infecțioase ale aparatului digestiv pe rase și categorii de vârstă în perioada 2014-2018.....	74
Figura 7.9 Distribuția afecțiunilor infecțioase ale aparatului de reproducție pe rase și categorii de vârstă în perioada 2014-2018.....	75
Figura 7.10 Distribuția afecțiunilor infecțioase ale aparatului locomotor pe rase și categorii de vârstă în perioada 2014-2018.....	75
Figura 8.1 1 Kit de diagnostic pentru anticorpi CAEV-p28 AGID	81
Figura 8.2 Imunodifuzie în gel de agaroză, ser pozitiv	82
Figura 8.3 Imunodifuzie în gel de agaroză, ser negativ	82
Figura 8.4 Rezultatele testelor AGID obținute la screeningul inițial	83
Figura 8.5 5 Rezultatele testelor AGID obținute după retestare la 6 luni	84
Figura 8.6 Rezultatele examenelor serologice efectuate pentru depistarea anticorpilor CAEV	85
Figura 8.7 Distribuția rezultatelor pozitive pe județe și sistem de exploatare în perioada 2014-2018.....	86
Figura 9.1 Structura de vârstă și rasele luate în studiu în perioada octombrie 2014 - iunie 2018	91
Figura 9.2 Rezultatele examenelor clinice privind starea de sănătate pe structuri de vârstă	92
Figura 9.3 Iezi cu vârsta de 0-2 luni. A - Dezvoltare corporală sub media de creștere a rasei. B- Prezența apetitului pentru hrană	93
Figura 9. 4 Pneumonie interstițială la tineretul caprin de 6-9 luni, jetaj nazal	93
Figura 9.5 Șchiopătură incipientă. A – localizare bilaterală, B – localizare unilaterală, membru stâng	94
Figura 9.6 Șchiopătură gravă A - localizare bilaterală. B - localizare unilaterală, membru stâng	94
Figura 9.7 Șchiopătură gravă cu distensia pronunțată a articulației și început de anchiloză. A - localizare unilaterală, membru drept, B-localizare unilaterală, membru stâng	95
Figura 9.8 Șchiopătură gravă, A - Prezența crevaselor și a băăturilor la nivel articular, B - detaliu .	95

Figura 9.9 Șchiopătură gravă: A - Localizare bilaterală însoțită de slăbire pronunțată (săgeată), B - Localizare unilaterală membru drept cu modificări posturale	96
Figura 9.10 Șchiopătură severă. A- Localizare unilaterală membru drept cu modificări posturale, cifoasă. B - Localizare bilaterală însoțită de slăbire pronunțată	96
Figura 9.11 Șchiopătură severă. A - Localizare unilaterală membru drept cu ruptură de ligamente. B - Detaliu	97
Figura 9.12 Șchiopătură severă. A - Localizare unilaterală membru drept cu anchiloză severă. B - Detaliu	97
Figura 9.13 A - Șchiopătură severă cu atitudini forțate ale membrelor și anchiloză severă. B - Șchiopătură severă însoțită de cahexie	98
Figura 9.14 Mastită progresivă A,B - Scădere în volum a glandei mamare	98
Figura 9.15 A-Mastită indurativă progresivă cu atrofie unilaterală.B – Detaliu, cu prezența de noduli	99
Figura 9.16 Mastită indurativă. A, B - cu prezența de noduli multipli (săgeata). C - Indurare generalizată a glandei mamare	99
Figura 9.17 A - Mastită indurativă însoțită de cahexie. B - Detaliu glandă mamară cu indurare generalizată	100
Figura 9.18 Pneumonie progresivă la caprinele adulte. A - jetaj nazal bilateral; B - jetaj nazal unilateral, C – epiforă	100
Figura 9.19 A, B - Pneumonie cronică însoțită de cahexie	101
Figura 9.20 Distribuția simptomelor în funcție de localizare și categoria de vârstă.....	102
Figura 9.21 Distribuția simptomelor raportată la categoria de vârstă	103
Figura 9.22 Imagine radiografică - membrul anterior stâng, articulația carpometacarpiană, incidență medio-laterală, poziție oblică la capră. Articulație mărită în volum pe baza augmentării țesuturilor moi, radioopacitate crescută	106
Figura 9.23 A -Radiografie membrul anterior stâng, articulația carpometacarpiană mărită în volum. B – reacții periostale pe marginea laterală a radiusului	106
Figura 9.24 A -Radiografie membrul anterior drept, articulația carpometacarpiană, incidență medio-laterală. B - Zone de radioopacitate cu aspect mineral, calcificare (săgeți).....	107
Figura 9.25 Radiografie glanada mamară, incidență latero-laterală dreapta. Prezența zonelor de calcificare (săgeata)	108
Figura 9.26 Ecografie glanda mamară, incidență latero-laterală dreapta A- Aspect normal al glandei mamare. B -Prezența semnalului Doppler la nivelul zonei anecogene	109
Figura 9.27 Ecografie glanda mamara. A-.Cisterna mamară B - Aspect normal al țesutului glandular	109
Figura 9.28 Ecografie glanda mamara. A - o zona hiperecogenă, hiperreflectivă, cu aspect de boltă, – formațiune mineralizată în țesutul glandular mamar	110
Figura 9.29 Ecografie glanda mamara. Multiple mineralizări	110
Figura 9.30 Imagine radiologică a toracelui de capră, incidență lateral dreapta	111
Figura 10.1 Pulmon. Pneumonie interstițială subacută	114
Figura 10.2 Trahee de capră, pezența spumozităților	114
Figura 10.3 Articulație carpometacarpiană de capră. A - F Mărirea în volum a articulației. B-C Țesut conjunctiv modificat.....	115
Figura 10.4 Articulație carpometacarpiană de capră. A - Secțiune sagitală, capsulă articulară cu pereții îngroșați. B- Zonă de necroză a cartilajului articular (săgeată)	116
Figura 10.5 A - Articulație carpometacarpiană de capră. B – Aspectul cazeos al conținutului capsulei articulare.....	116
Figura 10.6 Glandă mamară de capră. A- aspect exterior, B -Secțiune longitudinală, C – Parenchim mamar fibrozat.....	117
Figura 10.7 Pulmon de capră.A- aspectul dens, marmorat, de culoare roz-cenușie, B – Detaliu	117
Figura 10.8 Pulmon de capră. A - Pneumonie, aspect roz-cenușiu marmorat; B) Detaliu	118
Figura 10.9 Pulmon de capră. A - Hepatizație roșie, B - Trahee, prezența spumozităților.....	118

Figura 10.10 A - Congestia pronunțată a meningelui și a creierului. B- Detaliu	118
Figura 10.11 Cerebel –Ușoară decolorare a substanței cenușii	119
Figura 10.12 A - Bronhopneumonie limfohistiocitară, proliferări limfohistiocitare printre structurile bronșice. Colorație MTC x 100. B - Organizarea lor perivasculară sub formă de „manșon” (săgeata), Colorație MTC x 200	122
Figura 10.13 Artrită cronică limfohistiocitară și fibroasă. A - Capsulă articulară fibrozată și neoformație de capilare sanguine(săgeată), B- Necroze și calcificare metastatică a capsulei articulare	123
Figura 10.14 Infiltrat limfoplasmocitar și macrofagic în țesutul muscular periarticular	123
Figura 10.15 A- Mineralizare/calcificare a capsulei articulare. B- Inflamație limfohistiocitară și fibroză extinsă a țesuturilor periarticulare și debut de mineralizare (artroză).....	124
Figura 10.16 Mastită limfomonocitară. A- Fibroze extinse ce distorsionează și comprimă acinii mamari. B- Fibroze și mineralizări bine circumscrise(depozite mov) ale acinilor mamari. Colorație MTC x 200	124
Figura 10.17 Mastită limfoplasmocitară .A - zone de calcificare bine circumscrise a acinilor mamari. B - Calcificare difuză a acinilor mamari. Colorație MTC x 200.....	125
Figura 10.18 Mastită limfoplasmocitară, calcificări (mov), detritus necrotic. Colorație MTC x 200 ..	125
Figura 10.19 Limforeticulită hiperplazică. Colorație MTC x 100.....	126
Figura 10.20 A - Ștergerea arhitecturii limfonodului. B- Amiloidoză severă. Mase de amiloid ce au condus la ștergerea structurii limfonodului. Colorație MTC x 200	126
Figura 10.21 Pneumonie interstițială. A - subacută. B – severă. Colorație MTC x 200	127
Figura 10.22 Bronșită limfohistiocitară cu prezența limfocitelor și histiocitelor printre structurile bronșice. Colorație MTC x 200	127
Figura 10.23 A - Hiperplazia epitelului bronșic și infiltrat limfohistiocitar peribronșic. B- Calcificare a cartilajelor bronhice. Colorație MTC x 200.....	128
Figura 10.24 A - Emfizem pulmonar, alveole pulmonare cu pereții ruși. B- Calcificări difuze. Colorație MTC x 100	128
Figura 10.25 Limfonod traheo-bronșic de capră. A -Granulom cu o zonă de necroză centrală si un perete organizat în trei zone. Colorație MTC x 50. B – Detaliu Colorație MTC x 200.....	129
Figura 10.26 A - Edem și congestie a foițelor meningeale; B) Destinderea spațiilor Virchow-Robin. Colorație MTC x 200	129
Figura 10.27 Encefalită limfohistiocitară cu prezența celulelor inflamatorii perivasculare și a nodulilor gliali. (săgeată) Colorație MTC x 400.....	130
Figura 10.28 Encefalomalacie. A– Noduli gliali (săgeata). Colorație MTC x 200. B - Encefalomalacie, cu prezența spațiilor goale din jurul neuronilor degenerați. Colorație MTC x 400.	130
Figura 10.29 Degenerare discretă a neuronilor Purkinje (săgeata). Col. MTC x 400	131
Figura 10.30 Măduva spinării. Demielinizări izolate și neuroni devitalizați (săgeată). Colorație MTC x 200	131
Figura 10.31 A – Nefrită interstițială limfohistiocitară. B - Inflamație interstițială accentuată, proliferare limfohistiocitară și fibroasă. Colorație MTC x 200	132
Figura 10.32 A - Inflamație interstițială accentuată, proliferare limfohistiocitară și fibroasă x 200. B - Amiloidoză glomerulară accentuată. Colorație MTC x 400.....	132
Figura 10.33 Amiloidoză glomerulară. A -Prezența cilindrilor hialini (săgeată). B - hiperplazia fibroblastelor și a fibrelor de collagen Colorație MTC x 100	133
Figura 10.34 Amiloidoză tubulară și interstițială severă. A- x 400. B –Detaliu. Colorație MTC x 200	133
Figura 10.35 A - Necroza epitelilor tubulare. B- degenerarea tubilor uriniferi compriși. Colorație MTC x 400.....	134
Figura 10.36 Amiloidoza hepatică. A Mase de amiloid dispuse la periferia lobulului hepatic în apropierea A - spațiul Kiernan. B- în spatiile Disse. Colorație MTC x 400.....	134
Figura 10.37 Amiloidoză splenică difuză severă. Colorație MTC x 100.....	135

Figura 10.38 Amiloidoză splenică difuză severă. A -Depozitele de amiloid comprimă foliculii limfoizi. Colorație MTC x 200. B- Mase mari de amiloid. Colorație MTC x 400.....	135
Figura 10.39 Jejunită limfoplasmocitară severă cu infiltrat din limfocite și plasmocite. Colorație MTC x 200.....	136
Figura 10.40 Jejunită limfoplasmocitară. A - Infiltrat masiv cu limfocite la baza vilozităților. Colorație MTC x 200. B - Infiltrat limfoplasmocitar sever al epiteliului și corionului mucoasei jejunale.....	136
Figura 10.41 Endometrită proliferativă și fibroză accentuată a corionului. Colorație MTC x 50	137
Figura 10.42 A - Endometrită hiperplazică – proliferarea glandelor endometriale Colorație MTC x 100. B - Infiltrat limfohistiocitar (săgeată). Colorație MTC x 200	137
Figura 11.1 A – WBC (săgeata). B – Repartizarea WBC în microtuburi 1,5ml. C – Aspectul acizilor nucleici obținuți.....	140
Figura 11.2 Electroforeza pe gel de agaroză 1,8%. A- Aspectul gelului după 10 minute . B – Aspectul gelului de agaroză la finalul migrării.....	143
Figura 11.3 A - Spectrofotometru Eppendorf Biophotometer Plus (PSC 555). B – D Citiri ale măsurării cantității de ADN	143
Figura 11.4 Fragmentul de 1192 bp amplificat din gena CAEV. M- martorul molecular cu greutatea de 100 bp, CN - Control negativ, CP – Control pozitiv, P3, P6, P7 – probe pozitive.....	144
Figura 11.5 Fragmentul de 1327 bp amplificat din gena CAEV. M- martorul molecular cu greutatea de 100 bp, CN - Control negativ, CP – Control pozitiv, P1, P4, P6, P9 – probe pozitive	144
Figura 11.6 Rezultate testelor AGID și nested PCR	145
Figura 11.7 Nucleotidele simulate de programul <i>Geneious Prime 2019</i>	147
Figura 11.8 Alinierea secvențelor de nucleotide obținute comparativ cu secvența genei <i>gag</i> NC_001463.1.....	148
Figura 11.9 Mărimile ampliconilor și gradul de similitudine cu genomul CAEV obținute după asamblarea secvențelor	149
Figura 11.10 Arbore filogenetic a secvențelor genomului CAEV generat pe baza programului <i>Geneious Prime 2019</i>	151
Figura 12.1 Schema proiectului pentru obținerea statutului de efectiv liber de CAEV.....	155

ANEXA 4. LISTA PROBELOR

ANNEX 4. LIST OF SAMPLES

Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR
1	BT 1	2552102921	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
2	BT 2	2100124416	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
3	BT 3	210014408	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
4	BT 4	2100124407	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
5	BT 5	2100124406	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
6	BT 6	2100124402	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
7	BT 7	2100124402	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
8	BT 8	2100124401	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
9	BT 9	2100124396	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
10	BT 10	2100124393	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
11	BT 11	2100124391	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
12	BT 12	2100124389	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
13	BT 13	2100124383	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
14	BT 14	2100124382	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
15	BT 15	2100124379	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
16	BT 16	2070229484	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
17	BT 17	2070229484	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
18	BT 18	207029450	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
19	BT 19	2070229261	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
20	BT 20	2070229260	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
21	BT 21	2050901746	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
22	BT 22	2050901732	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
23	BT 23	2050901731	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
24	BT 24	2050901729	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
25	BT 25	2050901727	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
26	BT 26	2050901725	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
27	BT 27	2050901720	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
28	BT 28	2040922700	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
29	BT 29	2040922697	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
30	BT 30	2040922696	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
31	BT 31	2040920544	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
32	BT 32	204920536	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
33	BT 33	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
34	BT 34	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
35	BT 35	2551394019	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
36	BT 36	2551394021	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

37	BT 37	2551394023	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
38	BT 38	2551394031	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
39	BT 39	2551394032	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
40	BT 40	2551394033	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
41	BT 41	2551394034	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
42	BT 42	2551394037	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
43	BT 43	2551394043	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
44	BT 44	2551394053	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
45	BT 45	2551394101	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
46	BT 46	2551394102	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
47	BT 47	2551394110	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
48	BT 48	2551394111	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
49	BT 49	2551394114	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
50	BT 50	2551394126	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
51	BT 51	2551394127	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
52	BT 52	2551394128	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
53	BT 53	2551394129	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
54	BT 54	2551394131	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
55	BT 55	2551394134	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
56	BT 56	2551394136	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
57	BT 57	2551394144	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
58	BT 58	2551394145	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
59	BT 59	2551394152	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
60	BT 60	2551394154	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
61	BT 61	2551394157	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
62	BT 62	2551394160	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
63	BT 63	2551394162	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
64	BT 64	2551394163	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
65	BT 65	2551394164	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
66	BT 66	2551394165	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
67	BT 67	2551394169	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
68	BT 68	2551394172	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
69	BT 69	2551394175	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
70	BT 70	2551394176	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
71	BT 71	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
72	BT 72	2551394186	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
73	BT 73	2551394188	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
74	BT 74	2551394189	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
75	BT 75	2551394192	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
76	BT 76	2551394195	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

Teză de doctorat - 2019

77	BT 77	2551394199	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
78	BT 78	2551445304	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
79	BT 79	2551445344	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
80	BT 80	2551445346	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
81	BT 81	2551445349	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
82	BT 82	2551445353	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
83	BT 83	2551445355	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
84	BT 84	2551445356	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
85	BT 85	2551445361	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
86	BT 86	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
87	BT 87	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
88	BT 88	2551445406	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
89	BT 89	2551445407	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
90	BT 90	2551445412	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
91	BT 91	2551445413	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
92	BT 92	2551445416	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
93	BT 93	2551445426	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
94	BT 94	2551445428	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
95	BT 95	2551445429	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
96	BT 96	2551445431	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
97	BT 97	2551445436	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
98	BT 98	2552844184	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
99	BT 99	2552844185	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
100	BT 100	2565028887	Autohtonă	Mascul	Fermă	Negativ	netestat
101	BT 101	2565028890	Autohtonă	Mascul	Fermă	Negativ	netestat
102	BT 102	2565028886	Autohtonă	Mascul	Fermă	Negativ	netestat
103	BT 103	2551842164	Autohtonă	Mascul	Fermă	Negativ	netestat
104	BT 104	2551842157	Autohtonă	Mascul	Fermă	Negativ	netestat
105	BT 105	2551842160	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
106	BT 106	2565028888	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
107	BT 107	2565028889	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
108	BT 108	2565028893	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
109	BT 109	2565028891	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
110	BT 110	2565028890	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
111	BT 111	2565028894	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
112	BT 112	2565028895	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
113	BT 113	2565028896	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
114	BT 114	2565028897	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
115	BT 115	2565028898	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
116	BT 116	2565028899	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

117	BT 117	2565028900	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
118	BT 118	2569024782	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
119	BT 119	2569024730	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
120	BT 120	2569024733	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
121	BT 121	2569024742	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
122	BT 122	2569024764	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
123	BT 123	2569024745	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
124	BT 124	2569024637	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
125	BT 125	2560855826	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
126	BT 126	2560855827	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
127	BT 127	2560855828	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
128	BT 128	2560855829	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
129	BT 129	2560855830	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
130	BT 130	2560855831	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
131	BT 131	2560855832	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
132	BT 132	2560855833	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
133	BT 133	2560855856	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
134	BT 134	2560855857	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
135	BT 135	2560855858	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
136	BT 136	2560855859	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
137	BT 137	2560855860	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
138	BT 138	2560855861	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
139	BT 139	2560855862	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
140	BT 140	2560855863	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
141	BT 141	2560855864	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
142	BT 142	2560855865	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
143	BT 143	2560855866	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
144	BT 144	2560855867	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
145	BT 145	2560855868	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
146	BT 146	2560855869	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
147	BT 147	2560855958	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
148	BT 148	2560855959	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
149	BT 149	2560855960	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
150	BT 150	2560855961	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
151	BT 151	2560856005	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
152	BT 152	2560856006	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
153	BT 153	2560856007	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
154	BT 154	2560856008	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
155	BT 155	2560856009	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
156	BT 156	2560856020	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

Teză de doctorat - 2019

157	BT 157	2560856021	Autohtonă	Tineret	Gospodărie	Negativ	netestat
158	BT 158	2560856022	Autohtonă	Tineret	Fermă	Negativ	netestat
159	BT 159	2560856023	Autohtonă	Tineret	Fermă	Negativ	netestat
160	BT 160	2560856024	Autohtonă	Tineret	Fermă	Negativ	netestat
161	BT 161	2560856025	Autohtonă	Tineret	Fermă	Negativ	netestat
162	BT 162	2560856014	Autohtonă	Tineret	Fermă	Negativ	netestat
163	BT 163	2560856015	Autohtonă	Tineret	Fermă	Negativ	netestat
164	BT 164	2560856016	Autohtonă	Tineret	Fermă	Negativ	netestat
165	BT 165	2090024637	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
166	BT 166	2551028859	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
167	BT 167	2551028868	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
168	BT 168	2551028873	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
169	BT 169	2551028875	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
170	BT 170	2551028876	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
171	BT 171	2551028880	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
172	BT 172	2551028882	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
173	BT 173	2551028884	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
174	BT 174	2551028885	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
175	BT 175	2551028888	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
176	BT 176	2551028890	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
177	BT 177	2551028891	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
178	BT 178	2551028903	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
179	BT 179	2551028908	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
180	BT 180	2565028831	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
181	BT 181	2565028832	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
182	BT 182	2565028833	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
183	BT 183	2565028755	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
184	BT 184	2565028756	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
185	BT 185	2565028757	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
186	BT 186	2565028758	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
187	BT 187	2565028759	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
188	BT 188	2565028760	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
189	BT 189	2565028761	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
190	BT 190	2565028762	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
191	BT 191	2565028763	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
192	BT 192	2565028764	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
193	BT 193	2565028765	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
194	BT 194	2565028766	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
195	BT 195	2565028769	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
196	BT 196	2565028770	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

197	BT 197	2565028771	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
198	IS 1	2099016352	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
199	IS2	2551820748	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
200	IS 3	1576713623	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
201	IS 4	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
202	IS 5	2542202843	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
203	IS 6	2552202859	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
204	IS 7	2551118743	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
205	IS 8	2551123639	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
206	IS 9	2552202869	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
207	IS 10	2040922831	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
208	IS 11	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
209	IS 12	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
210	IS 13	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
211	IS 14	2040022813	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
212	IS 15	2551118716	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
213	IS 16	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
214	IS 17	2090204148	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
215	IS 18	2100125609	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
216	IS 19	2552202862	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
217	IS 20	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
218	IS 21	2551118717	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
219	IS 22	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
220	IS 23	2090204134	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
221	IS 24	2551118709	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
222	IS 25	2551118734	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
223	IS 26	2552202863	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
224	IS 27	2442202831	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
225	IS 28	2552202897	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
226	IS 29	2551118723	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
227	IS 30	2100125611	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
228	IS 31	2442202874	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
229	IS 32	2040922856	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
230	IS 33	2551118749	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
231	IS 34	2070227806	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
232	IS 35	2551118711	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
233	IS 36	2100125612	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
234	IS 37	2090204120	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
235	IS 38	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
236	IS 39	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

Teză de doctorat - 2019

237	IS 40	2551118708	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
238	IS 41	2090204040	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
239	IS 42	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
240	IS 43	2050901691	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
241	IS 44	2551118710	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
242	IS 45	2552202842	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
243	IS 46	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
244	IS 47	2560009860	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
245	IS 48	2560009859	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
246	IS 49	2560009858	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
247	IS 50	2554130219	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
248	IS 51	2554130218	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
249	IS 52	2554130217	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
250	IS 53	2554130216	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
251	IS 54	2554130215	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
252	IS 55	2554130214	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
253	IS 56	2554130213	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
254	IS 57	2554130212	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
255	IS 58	2554130211	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
256	IS 59	2099016351	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
257	IS 60	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
258	IS 61	2099016353	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
259	IS 62	2099016354	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
260	IS 63	2099016355	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
261	IS 64	2099016356	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
262	IS 65	2099016357	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
263	IS 66	2552371068	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
264	IS 67	2566017957	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
265	IS 68	2566017956	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
266	IS 69	2566017955	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
267	IS 70	2566017954	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
268	IS 71	2566017953	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
269	IS 72	2566017952	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
270	IS 73	2566017951	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
271	IS 74	2552246737	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
272	IS 75	2551740192	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
273	IS 76	2551740191	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
274	IS 77	2551740189	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
275	IS 78	2551740187	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
276	IS 79	2551135711	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

277	IS 80	2099016398	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
278	IS 81	2040113168	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
279	IS 82	2040698515	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
280	IS 83	2040698526	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
281	IS 84	2040698533	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
282	IS 85	2040698534	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
283	IS 86	2050768978	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
284	IS 87	2099016318	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
285	IS 88	2099016382	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
286	IS 89	2099016385	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
287	IS 90	2099016387	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
288	IS 91	2551820750	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
289	IS 92	2551820749	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
290	IS 93	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
291	IS 94	2551820747	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
292	IS 95	2551820746	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
293	IS 96	2551820745	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
294	IS 97	2551820744	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
295	IS 98	2551730542	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
296	IS 99	2551730541	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
297	IS 100	2551730540	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
298	IS 101	2551730539	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
299	IS 102	2551730538	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
300	IS 103	2551730537	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
301	IS 104	2551135780	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
302	IS 105	2551135775	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
303	IS 106	2551135767	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
304	IS 107	2551135765	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
305	IS 108	2551135758	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
306	IS 109	2551135752	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
307	IS 110	2551135751	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
308	IS 111	2551135748	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
309	IS 112	2551135744	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
310	IS 113	2050769012	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
311	IS 114	2551730570	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
312	IS 115	2551730561	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
313	IS 116	2551730556	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
314	IS 117	2551730554	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
315	IS 118	2551149749	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
316	IS 119	2551149726	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

Teză de doctorat - 2019

317	IS 120	2551149729	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
318	IS 121	2551149730	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
319	IS 122	2551149732	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
320	IS 123	2551149734	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
321	IS 124	2551730593	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
322	IS 125	2551730592	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
323	IS 126	2551730591	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
324	IS 127	2551730589	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
325	IS 128	2560009857	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
326	IS 129	2551730598	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
327	IS 130	2551730597	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
328	IS 131	2551730596	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
329	IS 132	2551730595	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
330	IS 133	2551730594	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
331	IS 134	2552169943	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
332	IS 135	2099016383	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
333	IS 136	2560009856	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
334	IS 137	2560009853	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
335	IS 138	2560009851	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
336	IS 139	2554198645	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
337	IS 140	2554198644	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
338	IS 141	2554198643	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
339	IS 142	2554198642	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
340	IS 143	2554198641	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
341	IS 144	2554198855	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
342	IS 145	2554198854	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
343	IS 146	2554198853	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
344	VS 1	2080305953	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
345	VS 2	2080305957	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
346	VS 3	2099107401	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
347	VS 4	2099107404	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
348	VS 5	2099107407	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
349	VS 6	2099107491	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
350	VS 7	2099107494	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
351	VS 8	2551253477	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
352	VS 9	2551253491	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
353	VS 10	2551253495	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
354	VS 11	2040572429	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
355	VS 12	2099107410	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
356	VS 13	2070486293	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

357	VS 14	2080305914	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
358	VS 15	2080305976	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
359	VS 16	2080305983	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
360	VS 17	2551320535	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
361	VS 18	2551320539	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
362	VS 19	2551320541	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
363	VS 20	2551320543	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
364	VS 21	2551320550	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
365	VS 22	2551400960	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
366	VS 23	2551320544	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
367	VS 24	2080305925	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
368	VS 25	2551320545	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
369	VS 26	2080305987	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
370	VS 27	2551253453	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
371	VS 28	2551253456	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
372	VS 29	2552708666	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
373	VS 30	2552708667	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
374	VS 31	2552708671	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
375	VS 32	2552708672	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
376	VS 33	2099107372	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
377	VS 34	2080305928	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
378	VS 35	2040572395	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
379	VS 36	2560506483	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
380	VS 37	2560506490	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
381	VS 38	2560506434	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
382	VS 39	2040572434	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
383	VS 40	2040572435	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
384	VS 41	2070486570	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
385	VS 42	2080305876	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
386	VS 43	2080305861	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
387	VS 44	2080305862	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
388	VS 45	2040142292	Autohtonă	Mascul	Gospodărie	Negativ	netestat
389	VS 46	2070893438	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
390	VS 47	2070893439	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
391	VS 48	2070893440	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
392	VS 49	2070893441	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
393	VS 50	2070893442	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
394	VS 51	2070893444	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
395	VS 52	2070893521	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
396	VS 53	2070893522	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

Teză de doctorat - 2019

397	VS 54	2552432847	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
398	VS 55	2552432848	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
399	VS 56	2552432849	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
400	VS 57	2551024605	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
401	VS 58	2100113511	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
402	VS 59	2090234999	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
403	VS 60	2551024648	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
404	VS 61	254196716	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
405	VS 62	2554075459	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
406	VS 63	208053238	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
407	VS 64	204982879	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
408	VS 65	2070326448	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
409	VS 66	Fără număr	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
410	VS 67	2554075417	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
411	VS 68	2554196878	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
412	VS 69	2551170896	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
413	VS 70	2554196784	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
414	VS 71	2554196731	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
415	VS 72	2554196768	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
416	VS 73	Fără număr	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
417	VS 74	2554196797	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
418	VS 75	2554196807	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
419	VS 76	2100113509	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
420	VS 77	2551170963	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
421	VS 78	2554196800	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
422	VS 79	2554196713	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
423	VS 80	Fără număr	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
424	VS 81	2554196767	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
425	VS 82	2554196877	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
426	VS 83	2554196744	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
427	VS 84	255419682	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
428	VS 85	256052415	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
429	VS 86	2554121971	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
430	VS 87	2554196774	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
431	VS 88	2554196845	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
432	VS 89	2554196743	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
433	VS 90	2554065435	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
434	VS 91	Fără număr	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
435	VS 92	2560524838	Specializate	Tineret	Fermă	Pozitiv	netestat
436	VS 93	2560524685	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	netestat
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

437	VS 94	2560524840	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	netestat
438	VS 95	2554196732	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	netestat
439	VS 96	2560124694	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	netestat
440	VS 97	2560524705	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	netestat
441	VS 98	Fără număr	Specializate	Mascul	Fermă	Negativ	netestat
442	VS 99	Fără număr	Specializate	Mascul	Fermă	Negativ	netestat
443	VS 100	Fără număr	Specializate	Mascul	Fermă	Negativ	netestat
444	VS 101	Fără număr	Specializate	Mascul	Fermă	Negativ	Negativ
445	VS 102	2551011235	Specializate	Mascul	Fermă	Pozitiv	netestat
446	VS 103	Fără număr	Specializate	Mascul	Fermă	Pozitiv	netestat
447	VS 104	584438530	Specializate	Mascul	Fermă	Pozitiv	netestat
448	VS 105	2560595729	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
449	VS 106	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
450	VS 107	2070209227	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
451	VS 108	2569026709	Specializate	Mascul	Fermă	Negativ	netestat
452	VS 109	2560595822	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
453	VS 110	772819209	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
454	VS 111	120000126436	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
455	VS 112	2552703185	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
456	VS 113	2560596051	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
457	VS 114	775875130	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
458	VS 115	2560295812	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	netestat
459	VS 116	25527033348	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	Negativ
460	VS 117	2552703229	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	Negativ
461	VS 118	2561531863	Specializate	Tineret	Fermă	Pozitiv	netestat
462	VS 119	2560595778	Specializate	Tineret	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
463	VS 120	2561532161	Specializate	Tineret	Fermă	Pozitiv	netestat
464	VS 121	2569026791	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	Negativ
465	VS 122	775926230	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	Negativ
466	VS 123	2551055401	Specializate	Mascul	Fermă	Pozitiv	netestat
467	VS 124	2552661658	Specializate	Mascul	Fermă	Negativ	Negativ
468	VS 125	2552532350	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
469	VS 126	2552857181	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
470	VS 127	2560595927	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
471	VS 128	2551602871	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Negativ
472	VS 129	800044109890	Specializate	Mascul	Fermă	Negativ	Pozitiv
473	VS 130	80004427833	Specializate	Mascul	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
474	VS 131	2560788942	Specializate	Mascul	Fermă	Pozitiv	netestat
475	VS 132	2562002287	Specializate	Mascul	Fermă	Pozitiv	netestat
476	VS 133	2562002289	Specializate	Mascul	Fermă	Negativ	Negativ
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

Teză de doctorat - 2019

477	VS 134	2562002285	Specializate	Mască	Fermă	Negativ	netestat
478	VS 135	2562002284	Specializate	Mască	Fermă	Negativ	netestat
479	VS 136	2562002295	Specializate	Mască	Fermă	Negativ	netestat
480	VS 137	256200294	Specializate	Mască	Fermă	Negativ	Negativ
481	VS 138	2563046380	Specializate	Mască	Fermă	Pozitiv	netestat
482	VS 139	2561532045	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
483	VS 140	2551055841	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
484	VS 141	2560747160	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
485	VS 142	2554167908	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
486	VS 143	2560595798	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
487	VS 144	2560524758	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
488	VS 145	2551055768	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
489	VS 146	2080568542	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
490	VS 147	2560746242	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
491	VS 148	2551391718	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
492	VS 149	2554008061	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
493	VS 150	2554008029	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
494	VS 151	255270348	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
495	VS 152	25372593640	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
496	VS 153	2552403263	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
497	VS 154	2560524804	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
498	VS 155	2552703196	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
499	VS 156	2099076212	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
500	VS 157	2560746930	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
501	VS 158	2552703296	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
502	VS 159	2552582268	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
503	VS 160	256132338	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Negativ
504	VS 161	210080110311	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
505	VS 162	256747030	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Negativ
506	VS 163	255363019	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
507	VS 164	2552582198	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
508	VS 165	2554196701	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
509	VS 166	2554196844	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
510	VS 167	2552363045	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
511	VS 168	254196816	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
512	VS 169	255124638	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
513	VS 170	2561531938	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
514	VS 171	2560595767	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
515	VS 172	255024610	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
516	VS 173	2552975665	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

517	VS 174	2554196842	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
518	VS 175	Fără număr	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
519	VS 176	2554159339	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
520	VS 177	2554142339	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
521	VS 178	2554021571	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
522	VS 179	2100110341	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
523	VS 180	2560746991	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Negativ
524	VS 181	2554008061	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
525	VS 182	2551397703	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
526	VS 183	2560746977	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
527	VS 184	2561532250	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
528	VS 185	2554055290	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
529	VS 186	2560747173	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
530	VS 187	12040126448	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
531	VS 188	Fără număr	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
532	VS 189	2030234411	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
533	VS 190	2560008167	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
534	VS 191	2552766925	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
535	VS 192	2551024610	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
536	VS 193	2554021570	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
537	VS 194	2554196736	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
538	VS 195	2552703459	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
539	VS 196	2560747123	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
540	VS 197	2554142343	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Negativ
541	VS 198	2554075417	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
542	VS 199	2560747177	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
543	VS 200	2560524745	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
544	VS 201	2561532257	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
545	VS 202	80004428114	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
546	VS 203	2554196772	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
547	VS 204	2560697882	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
548	VS 205	Fără număr	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
549	VS 206	2551397718	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
550	VS 207	775918230	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
551	VS 208	80004401097	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
552	VS 209	2554159512	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
553	VS 210	2552857248	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
554	VS 211	2560524774	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
555	VS 212	80004428126	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
556	VS 213	2560524768	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

Teză de doctorat - 2019

557	VS 214	2560595739	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
558	VS 215	2560746921	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
559	VS 216	2552975664	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
560	VS 217	2554142501	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
561	VS 218	2560746855	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
562	VS 219	2552947820	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
563	VS 220	25607265	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
564	VS 221	254196713	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
565	VS 222	2561531944	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
566	VS 223	2554196743	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
567	VS 224	2560746961	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
568	VS 225	2551055400	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
569	VS 226	2560788707	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
570	VS 227	2560524699	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
571	VS 228	2561531955	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
572	VS 229	2560524776	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
573	VS 230	2561531994	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
574	VS 231	2560697966	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
575	VS 232	2552703282	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
576	VS 233	2552582268	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
577	VS 234	775924930	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
578	VS 235	2551055032	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
579	VS 236	2552703301	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
580	VS 237	2554196793	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
581	VS 238	2561532095	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
582	VS 239	2554167870	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
583	VS 240	2560595799	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
584	VS 241	2560524823	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
585	VS 242	2554196720	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
586	VS 243	2554196776	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
587	VS 244	2552582198	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
588	VS 245	2560595758	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
589	VS 246	2560977507	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
590	VS 247	2560595759	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
591	VS 248	771139930	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
592	VS 249	2099151038	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
593	VS 250	2561532191	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
594	VS 251	2552703426	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
595	VS 252	2552703342	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
596	VS 253	25544652690	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

597	VS 254	2551024620	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
598	VS 255	2552582122	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
599	VS 256	2552579499	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
600	VS 257	2561532265	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
601	VS 258	2560548088	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
602	VS 259	2554052563	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
603	VS 260	2561531887	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
604	VS 261	2552009641	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
605	VS 262	2561531955	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
606	VS 263	Fără număr	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
607	VS 264	2554021564	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
608	VS 265	2560524773	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
609	VS 266	2561531932	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
610	VS 267	2554167795	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
611	VS 268	2554196783	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
612	VS 269	2560524764	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
613	VS 270	2552579496	Specializate	Tineret	Fermă	Pozitiv	netestat
614	VS 271	2560789000	Specializate	Tineret	Fermă	Pozitiv	netestat
615	VS 272	2560747583	Specializate	Tineret	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
616	VS 273	2560747582	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	Negativ
617	VS 274	2560788984	Specializate	Tineret	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
618	VS 275	2560747599	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	Negativ
619	VS 276	77	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	Negativ
620	VS 277	2560788986	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	Negativ
621	VS 278	58	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	Pozitiv
622	VS 279	2560747636	Specializate	Tineret	Fermă	Pozitiv	netestat
623	VS 280	2560747586	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	Negativ
624	VS 281	33	Specializate	Tineret	Fermă	Pozitiv	netestat
625	VS 282	2560747575	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	Pozitiv
626	VS 283	32	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	Pozitiv
627	VS 284	70	Specializate	Tineret	Fermă	Pozitiv	netestat
628	VS 285	2560747650	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	netestat
629	VS 286	2560747966	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	Negativ
630	VS 287	2560747972	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	Pozitiv
631	VS 288	2560747552	Specializate	Tineret	Fermă	Pozitiv	netestat
632	VS 289	2560747379	Specializate	Tineret	Fermă	Negativ	Negativ
633	VS 290	2560747901	Specializate	Tineret	Fermă	Pozitiv	netestat
634	VS 291	2560747542	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
635	VS 292	2551040892	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
636	VS 293	2561531950	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

Teză de doctorat - 2019

637	VS 294	2552703265	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
638	VS 295	2552703196	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
639	VS 296	2561531980	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
640	VS 297	2561531835	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
641	VS 298	2561531850	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
642	VS 299	2544196720	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
643	VS 300	2560977419	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
644	VS 301	210118490	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
645	VS 302	Fără număr	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Pozitiv
646	VS 303	2554196706	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
647	VS 304	2554196749	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
648	VS 305	2552703342	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
649	VS 306	2552703193	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Pozitiv
650	VS 307	2554196720	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
651	VS 308	2552113700	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
652	VS 309	2560746846	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
653	VS 310	2560595806	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
654	VS 311	2561532136	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
655	VS 312	Fără număr	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Pozitiv
656	VS 313	2551055038	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
657	VS 314	2561531917	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
658	VS 315	387478630	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
659	VS 316	2554008058	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
660	VS 317	2560746856	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Pozitiv
661	VS 318	2560595729	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
662	VS 319	2552579496	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	Pozitiv
663	VS 320	2561541847	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
664	VS 321	2552703337	Specializate	Femelă	Fermă	Pozitiv	netestat
665	VS 322	2552703244	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Negativ
666	VS 323	2560595764	Specializate	Femelă	Fermă	Negativ	Pozitiv
667	VS 324	2050723944	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
668	VS 325	2050723945	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
669	VS 326	2080305987	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
670	VS 327	2551253453	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
671	VS 328	2551253456	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
672	VS 329	2551253463	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
673	VS 330	2552708673	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
674	VS 331	2552708674	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
675	VS 332	2552708675	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
676	VS 333	2080305864	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

677	VS 334	2080305875	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
678	VS 335	2080305865	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
679	VS 336	2080305972	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
680	VS 337	2080305973	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
681	VS 338	2080305974	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
682	VS 339	2080305975	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
683	VS 340	2080305868	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
684	VS 341	2080305873	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
685	VS 342	2552708661	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
686	VS 343	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
687	VS 344	2552708662	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
688	VS 345	2552708656	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
689	VS 346	2560506481	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
690	VS 347	2560506482	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
691	VS 348	2560506484	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
692	VS 349	2560506485	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
693	VS 350	2560506486	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
694	VS 351	2560506487	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
695	VS 352	2560506488	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
696	VS 353	2560506489	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
697	VS 354	2560506491	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
698	VS 355	2560506492	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
699	VS 356	2560506493	Autohtonă	Femelă	Fermă	Negativ	netestat
700	VS 357	2040142284	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
701	VS 358	2040142285	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
702	VS 359	2040142291	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
703	VS 360	2040142293	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
704	VS 361	2040142294	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
705	VS 362	2040142295	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
706	VS 363	2040142296	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
707	VS 364	2040142298	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
708	VS 365	2040572450	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
709	VS 366	2560506421	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
710	VS 367	2560506422	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
711	VS 368	2560506423	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
712	VS 369	2560506424	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
713	VS 370	2070893524	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
714	VS 371	2070893525	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
715	VS 372	2070893526	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
716	VS 373	2070893527	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
717	VS 374	2070893528	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
718	VS 375	2070893530	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
719	VS 376	2070893531	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
720	VS 377	2070893532	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
721	VS 378	2070893533	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
722	VS 379	2080305826	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
723	VS 380	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
Nr crt	Proba	Crotalie	Rasa	Categorie	Exploatație	AGID	nPCR

Teză de doctorat - 2019

724	VS 381	2040572374	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
725	VS 382	2040572375	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
726	VS 383	2040572376	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
727	VS 384	2040572377	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
728	VS 385	2080305891	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
729	VS 386	2080305892	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
730	VS 387	2040572380	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
731	VS 388	2040572381	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
732	VS 389	2551253451	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
733	VS 390	2551253452	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
734	VS 391	2551253454	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
735	VS 392	2551253455	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
736	VS 393	2551253457	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
737	VS 394	2551253458	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
738	VS 395	2551253459	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
739	VS 396	2551253460	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
740	VS 397	2551253461	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
741	VS 398	2551253462	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
742	VS 399	2551253464	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
743	VS 400	2551253465	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
744	VS 401	2551253467	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
745	VS 402	2552432940	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
746	VS 403	2552432941	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
747	VS 404	2552432942	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
748	VS 405	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
749	VS 406	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
750	VS 407	2552432943	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
751	VS 408	2552432944	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
752	VS 409	2552432945	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
753	VS 410	2552432946	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
754	VS 411	2552432947	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
755	VS 412	2552432948	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
756	VS 413	2552432949	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
757	VS 414	2552708633	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
758	VS 415	2552708635	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
759	VS 416	Fără număr	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
760	VS 417	2552708636	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
761	VS 418	2552708637	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat
762	VS 419	2552708638	Autohtonă	Femelă	Gospodărie	Negativ	netestat

ANEXA 5. LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

ANNEX 5. LIST OF PUBLISHED SCIENTIFIC WORKS

PRIM AUTOR:

1. **MIHAI Iuliana**, VELESCU Elena, TANASE Oana-Irina, RUSU Oana-Raluca, 2016 - *Epidemiological study of the respiratory infectious pathology in goats in north-eastern romanian region*, Lucrări Științifice USAMV Iași – seria Medicină Veterinară, Ed. "Ion Ionescu de la Brad" Iași, Vol.58, nr.18, pg.551-553.
2. **MIHAI Iuliana**, TIPIȘCĂ Marinela, URSACHE Gabriela, TANASE Oana-Irina, VELESCU Elena, 2017 - *Kids goitre: case study*, Lucrări Științifice USAMV Iași – seria Medicină Veterinară, Ed. "Ion Ionescu de la Brad" Iași, Vol.60, nr.19, pg. 449-453.
3. **MIHAI Iuliana**, CRIVEI Ioana Cristina, HORHOGEA Cristina, SAVUȚA Gheorghe, VELESCU Elena, 2018 - *Preliminary serological investigation on caprine arthritidis and encephalitis virus infection in a goat farm from north-eastern romanian region*, Bulletin Of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine, vol.75, nr. 2, p. 243-245.
4. **MIHAI Iuliana**, VELESCU Elena, TANASE Oana-Irina, 2018 - *Epidemiological observations on Infectious Pathology of Goats in the Northeast Area of Romania*, Published in Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine, Vol. LXI, Bucuresti., Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine, vol. 61, p. 139-142.

COAUTOR:

5. SAVUȚA Gheorghe, **MIHAI Iuliana**, CRIVEI Ioana, ANIȚA Adriana, 2017 - *Review of goat breeding and herds health status in romania*, Lucrări Științifice USAMV Iași – seria Medicină Veterinară, Ed. "Ion Ionescu de la Brad" Iași, Vol.60, nr.2, pg.487-498.
6. RUSU Oana-Raluca, **MIHAI Iuliana**, FLORIȘTEAN Viorel, VLAD Gheorghe, VELESCU Elena, TANASE Oana Irina, RÎMBU Cristina Mihaela, GRECU Mariana, 2018 – *Phytoterapy, a new therapeutic treatment in infection with ORF virus at goats from Moldova area*, Lucrări Științifice USAMV Iași – seria Medicină Veterinară. vol. L. nr. 1.