UNIVERSITATEA DE ŞTIINŢE AGRICOLE ŞI MEDICINĂ VETERINARĂ CLUJ-NAPOCA
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ
DISCIPLINA DE PARAZITOLOGIE
Str. Mănăştur nr. 3-5
3400 Cluj-Napoca
Tel.: 40 264 - 596 384

RAPORT

privind evaluarea efectului antihelmintic *in vitro* asupra ouălor de *Ascaridia galli* al unui extract de plante (HERBA-TOP ANTIHELMINTIC)

Prezentul raport prezintă rezultatele obţinute în urma evaluării acţiunii *in vitro* a produsului HERBA-TOP ANTIHELMINTIC (Promedivet, Romania) asupra ouălor de *Ascaridia galli.*

1. Prezentarea produsului

Denumire: HERBA-TOP antihelmintic.

Producător: PROMEDIVET, Sovata, România.

Compoziţie. 100 ml conţine: extract hidroalchoolic din plante medicinale: cimbrişor (*Thymus serpyllum*), gălbenele (*Calendula officinalis*), iarbă mare (*Inula helenium*), vetrice (*Tanaceum vulgare*), sovârf (*Origanum vulgare*), peliniţă (*Artemisia annua*), pelin alb (*Artemisia absinthium*).

Acţiune farmacoterapeutică. HERBA-TOP ANTIHELMINTIC conţine extracte de plante medicinale cu proprietăţi antihelmintice, antiseptice, antiinflamatoare, antispastice, hepatoprotectoare, coleretice şi astringente.

Indicaţii. Se indică ca adjuvant în infestaţii cu helminţi. Se poate asocia cu alte medicamente antihelmintice, potenţând efectul acestora. Se recomandă folosirea la

cabaline, rumegătoare mari şi mici, porcine, păsări, curci, porumbei, iepuri. Creşte sporul de greutate. Produs 100% natural.

Doze şi mod de administrare. Se administrează pe cale orală, diluat în apă de băut, timp de 5-7 zile. Preventiv la mânji, viţei, purcei, miei se administrează câte 1-2 ml/10 kg de 2-3 ori pe zi, iar la păsări, curci, porumbei, iepuri în apă de băut câte 2-3 ml/1 L apă, timp de 7-10 zile. Se recomandă cure lunare a câte 7-10 zile.

În scop terapeutic dozele sunt de 1-2 ml/5 kg de 2-3 ori pe zi la mânji, viţei, purcei, miei, iar la păsări, curci, porumbei şi iepuri câte 4-5 ml/1 L apă în apa de băut, timp de 7-10 zile. Se poate administra în continu în caz de necesitate. Se poate folosi până la sacrificare.

Timp de aşteptare. Produsul nu are timp de aşteptare.

Păstrare. Produsul se păstrează la temperatura camerei (15 - 25 C°), în ambalaje bine închise, ferit de surse de foc, soare şi umezeală.

Prezentare. Flacoane de plastic, de 100 ml, 500 ml şi 1 litru.

Valabilitate. Doi ani, păstrat în ambalajul original, în condiţiile de păstrare prevăzute.

Precauţii pentru produsul neutilizat şi ambalaje. Nu sunt necesare precauţii speciale. A nu se lăsa la îndemâna copiilor.

Lot-Valabilitate: 7-26.02.2026

2. Protocol experimental

Locul testării. Studiul a fost efectuat la Facultatea de Medicină Veterinară Cluj-Napoca, laboratorul de Parazitologie şi Boli Parazitare.

Metoda de lucru. Stabilirea eficacității antihelmintice a produsului HERBA-TOP Antihelmintic asupra ouălor de *Ascaridia galli* s-a efectuat *in vitro* folosind testul de dezvoltare larvară in-ovo (TDL) și calcularea procentul de inhibare a embrionării ouălor (IEO).

Recoltarea ouălor de *A. galli.* Paraziții adulți *Ascaridia galli* au fost recoltați de la cadavre de pui de găină infectați natural. Recoltarea paraziților adulți a fost efectuată în cadrul disciplinei de Anatomie patologică, unde puii au fost aduși pentru diagnostic

necropsic. După recoltare, paraziții adulți au fost spălați cu o soluție de bicromat de potasiu 1%. A fost realizată identificarea specifică pe criterii morfologice a paraziților (Marchiondo et al., 2019) și sexarea acestora. Doar femelele au fost reținute și păstrate într-o soluție de bicromat de potasiu 1%, la temperatura de 4 °C până la utilizare. Ouăle au fost obținute prin disecarea femelelor și extragerea lor de la nivelul uterului. Ouăle recuperate au fost spălate cu soluție 0,5M de KOH și agitate ușor timp de 30 de minute pentru a dizolva stratul albuminos aderent și pentru a permite uniformizarea probei. Ulterior suspensia de ouă a fost centrifugată la 1500 × g timp de 3 minute și ouăle au fost spălate cu apă distilată de trei ori prin centrifugare. Ouăle au fost resuspendate în soluție de formol 1%, pentru a obține o concentrație de aproximativ 200 ouă/100 µl.

Testarea *in vitro*. Testul *in vitro* a fost efectuat în plăci de cultură celulară cu 24 de godeuri (Eppendorf, Nitech). Fiecare godeu a conținut câte 800 µl de soluție de formol 1%, 200 µl de suspensie de ouă de *A. galli* (aproximativ 400 de ouă) și 1000 µl de extract vegetal (Herba-Top Antihelmintic). Ouăle de *A. galli* au fost expuse la o serie de diluții ale extractului vegetal: 1:25; 1:50; 1:100; 1:200; 1:400 și 1:800. Doza terapeutică, recomandată de către producător pentru păsări este de 4-5 ml/l apă, doza de 5 ml/l apă corespunzând diluției 1:200. Pentru fiecare concentrație s-au efectuat 5 repetiții. Martorii au fost reprezentați de apă și alcool în concentrația regăsită în cele 5 diluții ale podusului testat și au fost repartizați în godeuri în volum de 2000 µl/godeu (Tabel 1).

Tabel 1. Diluțiile extractului vegetal și concentrațiile alcoolului

Dil. EV	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800
Conc. alc. (%)	2,69	1,35	0,67	0,34	0,17	0,09

Legendă: Dil. – diluție; EV – extract vegetal; alc. - alcool.

Plăcile de cultură celulară au fost păstrate 19 zile în incubator la o temperatură constantă de 27°C. Pentru a asigura condiții aerobe în timpul embrionării, plăcile de cultură au fost lăsate deschise, iar probele au fost aerate manual timp de 5 minute de trei ori pe săptămână (Freya și colab., 2020; Rahimian și colab., 2015). În toate probele s-a menținut o concentrație de formol de 0,5% pentru a preveni dezvoltarea microorganismelor.

Interpretare. La sfârșitul perioadei de incubație (19 zile), au fost numărate câte 100 de ouă/godeu și a fost determinat numărul și procentul de ouă embrionate pentru fiecare variantă experimentală (extract vegetal, alcool și apă). Procentul de inhibare a embrionării ouălor (IEO) a fost calculat utilizând formula (Coles et al., 1992): IEO = nr. ouă neeembrionate/nr. total ouă × 100.

Prelucrare statistică. S-a calculat media aritmetică și deviația standard pentru fiecare variantă experimentală. Valorile obținute au fost analizate statistic cu Testul t – student. Interpretarea statistică și biologică a datelor obținute a fost efectuată pe baza valorii indicelui statistic *P* după cum urmează: $P < 0,05$ rezultate semnificative statistic, $P < 0,01$ rezultate distinct semnificative statistic, $P < 0,001$ rezultate înalt semnificative statistic.

3. Rezultate

Rezultatele obținute în urma efectuării testului de dezvoltare larvară in ovo, pe ouă de *Ascaridia galli*, pentru extractul vegetal și pentru martorii negativi, sunt rezumate în Tabelele 2–3. După cum se poate observa din datele prezentate mai jos, valorile medii ale procentelor de inhibare a embrionării ouălor în cazul utilizării extractului vegetal, au variat în funcție de concentrația acestuia, între 65,6 și 72,4%. Valorile obținute pentru lotul martor cu alcool, au variat între 61,6 și 64,6%, fiind mai mici decât valorile medii înregistrate pentru lotul la care s-a utilizat extractul vegetal. În cazul martorului cu apă, procentul de ouă care nu au embrionat, a avut o valoare medie de 60,2.

Tabel 2. Procentul de inhibare a embrionării ouălor de *Ascaridia galli*, în cazul utilizării extractului vegetal

Dil. EV	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800
Godeu 1	69	64	68	64	66	65
Godeu 2	66	66	65	67	64	68
Godeu 3	75	66	75	71	68	60
Godeu 4	81	70	66	63	64	66
Godeu 5	71	74	63	76	72	69
Medie±SD	**72,4±5,81**	**68±4**	**67,4±4,62**	**68,2±5,36**	**66,8±3,35**	**65,6±3,51**

Legendă: Dil. – diluție; EV – extract vegetal; DS – deviație standard.

Tabel 3. Procentul de inhibare a embrionării ouălor de *Ascaridia galli*, în cazul martorilor

Dil. alc (conc. alc. %)	1:25 (2,69)	1:50 (1,35)	1:100 (0,67)	1:200 (0,34)	1:400 (0,17)	1:800 (0,09)	Apă
Godeu 1	58	61	59	56	67	69	60
Godeu 2	66	66	68	59	71	71	56
Godeu 3	61	59	72	65	66	56	61
Godeu 4	65	68	57	71	58	53	62
Godeu 5	64	69	66	57	63	64	62
Medie±SD	**62,8 ± 3,27**	**64,6 ± 4,39**	**64,4±6,27**	**61,6±6,31**	**63±6,20**	**62,6±7,89**	**60,2±2,49**

Legendă: Dil. – diluție; alc – alcool; EV – extract vegetal; DS – deviație standard.

În Tabelul 4 sunt prezentate valorile obținute în urma evaluării statistice a procentului de inhibare a embrionării ouălor de *A. galli,* pentru fiecare concentrație a extractului vegetal, raportate la procentulul de inhibare a embrionării ouălor obținut pentru concentrații similare de alcool, precum și pentru controlul reprezentat de apă. S-au observat diferențe semnificative statistic pentru extractul vegetal la concentrații de 1:25 și 1:50, comparat cu acțiunea alcoolului. S-au înregistrat diferențe statistice semnificative între grupul expus la extract vegetal și grupul martor fără alcool (apă) pentru concentrațiile 1:25; 1:50, 1:100, 1:200 și 1:400.

Tabel 4. Valoarea indicelui statistic *P* obținut prin testul t-student

Diluție	EV - alcool	EV - apă
1:25	0,027748	0,003228
1:50	0,048128	0,006465
1:100	0,326164	0,031691
1:200	0,200288	0,028547
1:400	0,333193	0,007625
1:800	0,385505	0,062839

Legendă: EV – extract vegetal.

4. Concluzii

În urma efectuării "Testului de dezvoltare larvară in-ovo" asupra ouălor de *Ascaridia galli* s-au observat următoarele aspecte:

1. în cazul utilizării soluției HERBA-TOP ANTIHELMINTIC procentul de inhibare a embrionării ouălor de *Ascaridia galli* a variat în funcție de concentrația utilizată, fiind mai mare (65,6 - 72,4%) decât în cazul martorului alcool (61,6 - 64,6%), dar s-au observat diferențe semnificative statistic doar la primele 2 diluții, respectiv 1:25 (40 ml/l apă) și 1:50 (20 ml/l apă).
2. S-au observat diferențe semnificative statistic la procentul de inhibare a embrionării ouălor de *Ascaridia galli*, comparând extractul vegetal și martorul apă, la următoarele concentrații ale extractului vegetal testate: 1:25 (40 ml/l apă); 1:50 (20 ml/l apă), 1:100 (10 ml/apă), 1:200 (5 ml/l apă) și 1:400 (2,5 ml/l apă).

5. Bibliografie

1. Coles G. C., Bauer C., Borgsteede F. H., Geerts S., Klei T. R., Taylor M. A., Waller P. J.. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance, Vet Parasitol, 44(1-2):35-44.
2. Feyera T., Ruhnke I., Sharpe B., Elliott T., Campbell DLM, Walkden-Brown SW. 2020. Viability and development of *Ascaridia galli* eggs recovered in artificial media followed by storage under different conditions. J Helminthol. 94:e199.
3. Marchiondo A.A., Larry R., Cruthers L.R., M.S., Reinemeyer C.R. 2019. Parasiticide Screening: *In Vitro* and *In Vivo* Tests with Relevant Parasite Rearing and Host Infection/Infestation Methods. Academic Press, Vol. 2, pp 142-159.
4. Rahimian S., Gauly M., Daş G. 2016. Embryonation ability of *Ascaridia galli* eggs isolated from worm uteri or host faeces. Vet Parasitol, 215:29-34.

Cluj-Napoca
31.01.2025