

Buta Andreea Mirela

(REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT)

Analiza profilului hematologic și a potențialului hematopoetic la puii de găină în cursul unor stadii fiziologice și diete cu nutraceutice

Doctorand Buta Andreea Mirela

Conducător de doctorat Prof. Univ. Dr. Ognean Laurenț



INTRODUCERE

Creșterea intensivă și gospodărească a păsărilor reprezintă un important subsector al producției animaliere și joacă un rol important în creșterea economică, iar un aspect important în ceea ce privește creșterea unor pui de carne sănătoși, precum puii Broiler, este crearea unui program eficient de gestionare a stresului pentru prevenirea îmbolnăvirilor. De asemenea, evaluarea stării de sănătate a păsărilor de curte prin teste comprehensive, hematologice și biochimice, în special al celor provenite din fermele de creștere intensivă, permite detectarea precoce a semnelor de boală, înainte ca aceasta să producă mortalități și, implicit, pierderi economice (DOUGLAS și colab., 2010). Cu toate că puii de găină au fost folosiți ca model animal de cercetare în vederea stabilirii parametrilor fiziologici pentru alte specii aviare, au fost publicate puține informații referitoare la evoluția parametrilor hematologici și biochimici ai acestora. Stabilirea intervalelor de referință pentru interpretarea hemoleucogramei la păsări sa dovedit extrem de dificilă datorită variațiilor largi ale valorilor acestor indici în funcție de o multitudine de factori interni și externi.

În ultimele două decenii a crescut considerabil numărul păsărilor domestice și sălbatice devenite pacienți în clinicile și spitalele veterinare, precum și în centre de reabilitare a faunei sălbatice. În situații critice este important să se acorde cele mai bune îngrijiri de urgență, ceea ce implică și în cazul pacientului aviar, inversarea șocului și restabilirea homeostaziei. Îndeplinirea acestui deziderat poate necesita o transfuzie de sânge, deși există diferențe variabile între fiziologia păsărilor și cea a mamiferelor, cum ar fi capacitatea păsărilor de a tolera pierderi mai mari de sânge, terapia transfuzională reprezintă un mod eficient pentru tratarea pacientului aviar anemic. Transfuziile de sânge integral (autolog, omolog și heterolog) și administrarea de soluții pe bază de hemoglobină, care transportă oxigen, sunt tratamentele utilizate cel mai frecvent la păsări.

Studiile pe păsări au avut un rol important în înțelegerea evenimentelor hematopoietice la mamifere. Totuși, unele aspecte specifice ale ontogeniei sistemului hematopoietic aviar, cum ar fi locul unde apare expansiunea și diferențierea celulelor hematopoietice, rămân neclare. Conform studiilor bibliografice, acest rol este atribuit ficatului fetal la mamifere și pare să fie asumat de focarele para-aortice la embrionii de găină (AHMED AL-NEDAWI, 2018).

Considerăm că, un studiu morfologic integrat este important pentru a înțelege mai bine distribuția temporală și spațială a situsurilor hematopoietice în timpul dezvoltării aviare, embrionare și post-embriionare. O condiție esențială pentru creșterea și sănătatea păsărilor, mai ales a puilor Broiler, este dezvoltarea unor programe eficiente de gestionare a stresului, precum și a bolilor intercurente și specifice ale acestora, care pot recurge și la utilizarea nutraceuticelor. Păsările sunt foarte sensibile la stres, iar nivelul acestuia poate atinge cote periculoase cu consecințe severe atunci când devine decompensat.

SCOPUL ȘI OBIECTIVELE TEZEI

Scopul principal al documentărilor și investigațiilor efectuate în cadrul acestei teze de doctorat a constatat în analiza evoluției potențialului hematopoietic medular și extra medular, indicilor hematologici de bază, compatibilității sanguine intra și interspecifice la păsări și a efectelor probiotice ale nutraceuticului Biolactorom la puii Broiler de găină.

La baza realizării acestui scop au stat următoarele **obiective generale**:

- ❖ Actualizarea procedurilor de prelevare și prelucrare a probelor de sânge, măduvă osoasă și alte organe hematoformatoare la găină în stadiile de embrion, pui nou-eclozat și adult.
- ❖ Actualizarea testelor utilizate în evaluarea profilului hematologic, hematopoeziei, compatibilității sanguine și efectelor probiotice la găină și alte specii de păsări;
- ❖ Analiza evoluției hemoleucogramei și elaborarea unor modele corelative de evaluare a particularităților morfofiziologice ale elementelor progenitoare și mature de pe liniile celulare sanguine;
- ❖ Caracterizarea morfofiziologică a insulelor celulare progenitoare surprinse în preparatele sanguine, hepato-splenice și pulmonare la embrionii și puii nou-eclozați;
- ❖ Investigarea potențialului hematopoietic medular și extramedular în perioada embrionară și post-eclozare la puii Broiler;
- ❖ Investigarea compatibilității sanguine intra- și interspecifică pe eșantioane de păsări aparținând Ordinilor *Anseriformes*, *Galliformes* și *Columbiformes* diferite ca proveniență, condiții de întreținere, vârstă și sex;
- ❖ Analiza impactului unor indici hematologici în investigarea influențelor hematopoietice și probiotice al unui nutraceutic pe bază de *Lactobacillus plantarum* și zer deproteinizat și glicerinat, la puii Broiler sănătoși și cu anemii intercurrente;
- ❖ Evaluarea oportunității de înlocuire a unor promotori de creștere cu nutraceutice și suplimente furajere de interes pentru creșterea intensivă a puilor Broiler.

STRUCTURA TEZEI

Teza de doctorat intitulată „**Analiza profilului hematologic și a potențialului hematopoietic la puii de găină în cursul unor stadii fiziologice și diete cu nutraceutice**” este structurată și redactată în conformitate cu prevederile Școlii Doctorale USAMV Cluj-Napoca și recomandările Facultății de Medicină Veterinară, fiind avizată pozitiv și de Comisia de bioetică în domeniu, prin Decizia 160/26.05.2019. Lucrarea include un număr total de 164 de pagini, dintre care 52 (31,7%) revin primei părți, compuse din 4 capitole și 112 (68,3%) părții a doua, desfășurată pe 8 capitole.

Stadiul actual al cunoașterii

Prima parte constituie un veritabil ansamblu bibliografic, care sintetizează principalele noutăți din domeniile abordate în teză, reprezentate de: morfofiziologia țesutului sanguin, profilul hematologic, funcțiile hematopoietice, compatibilitatea sanguină și testarea produselor nutraceutice. Toate acestea sunt sintetizate în următoarele patru capitole:

Capitolul I este intitulat "*Actualități privind țesutul sanguin și profilul hematologic la păsări*" și cuprinde două subcapitole, care abundă în detalii privind particularitățile componentelor morfologici ai sangelui la păsări și evoluția profilului hematologic în stări fiziologice și patologice la găină.

Capitolul II, denumit "*Aspecte actuale privind funcțiile hematopoietice la păsări*", actualizează, în trei subcapitole, particularitățile hematopoiezei în perioada embrionară, evoluția funcțiilor hematopoietice după eclozare și investigarea organelor hematoformatoare la puii Broiler.

Capitolul III, intitulat "*Considerații actuale privind compatibilitatea sanguină la păsări*", sintetizează, în două subcapitole, particularitățile antigenității eritrocitare la găină și testarea compatibilității sanguine transfuzionale la păsări.

Capitolul IV, denumit "*Impactul nutraceuticelor asupra profilului sanguin la puii de găină*" și abordează, în două subcapitole, unele aspecte legislative privind utilizarea nutraceuticelor la animale și impactul hematopoietic și hematologic al utilizării nutraceuticelor la păsări.

Contribuția personală

Partea a II-a include, conform cerințelor privind redactarea tezei doctorale, contribuțiile personale, acestea fiind grupate în patru capitole, axate pe cele patru direcții de cercetare abordate care reies din obiectivele urmărite

Contribuția personală debutează prin prezentarea scopului și obiectivelor generale, făcând referiri și la locațiile, respectiv particularităților în care s-au realizat cercetările, formulate în vederea obținerii rezultatelor estimate.

Capitolul V, „**Materialele și metodele**” utilizate în realizarea cercetărilor, detaliile fiind centrate pe prezentarea: materialului biologic; procedurilor de prelevare și prelucrare a probelor de sânge și organe hematoformatoare; optimizarea relevanței preparatelor implementate în investigațiile hematologice și hematopoietice la păsări; evidențierea unor nișe celulare hematoformatoare medulare și extramedulare; utilizarea modelului aviar în studiul hematopoiezei în perioada embrionară și post eclozare la puii Broiler; evaluarea compatibilității sanguine la păsări prin testare încrucișată de tip Crossmatch; testarea efectelor probiotice și implementarea produsului nutraceutic Biolactorom în creșterea puilor de carne; analiza statistică și interpretarea datelor obținute la investigații efectuate în capitolele tezei.

Menționăm totodată că, rezultate obținute abundă în prelucrări imagistice și grafice, care a facilitat înțelegerea mecanismelor fiziologice abordate, interpretările și discuțiilor efectuate.

Capitolul VI (Studiul 1), intitulat „*Evoluția hemogramei la embrionii și puii de găină*”, include un ansamblu de cercetări, care facilitează diferențierea inclusiv a heterofilelor și eozinofilelor, structuri celulare considerate dificil de identificat de către cercetătorii în domeniu. Este important să menționăm că, datele obținute în cercetările pe pui Broiler, în special cele hematologice, sunt caracterizate de o largă variabilitate, în funcție de vârstă, sex și alți factori, aceste valori putând prezenta chiar și oscilații diurne (BOUNOUS și STEDMAN, 2000).

Valorile medii ale numărul total de eritrocite ($2,35 \pm 0,22$ - $2,83 \pm 1,04$ T/L) au fost ușor mai scăzute la lotul martor, decât la cel experimental ($2,27 \pm 0,38$ - $4,07 \pm 5,15$ T/L), la ambele loturi variațiile individuale încadrându-se în limite normale. Numărul total de leucocite s-a încadrat de asemenea, în limitele fiziologice în cazul lotului martor, valorile medii fiind cuprinse între $12,96 \pm 31,18$ și $26,56 \pm 28,5$ $\times 10^9$ /L, iar la lotul experimental încadrate între $10,4 \pm 16$ și $19,36 \pm 43,22$ $\times 10^9$ /L. După cum se poate observa rezultatele obținute la cele două loturi prezintă câteva diferențe individuale, unele fiind mai crescute inclusiv în cazul lotului martor. În privința valorilor medii ale heterofilelor, la lotul martor acestea sunt încadrate între $42,8 \pm 12,63\%$ și $48,6 \pm 8,35\%$, iar pentru lotul experimental între $42,4 \pm 4,27$ și $50,8 \pm 5,21\%$. Și în cazul acestui parametru, cele două loturi au avut rezultate diferite, dar care s-au încadrat în limite fiziologice, după HOFFMAN (1961), deși alți autori consideră aceste valori ca fiind ușor peste limita superioară (PIERSON, 2000). Eozinofilele au înregistrat valori normale pentru ambele loturi, lotul martor având mediile cuprinse între $2,6 \pm 1,94$ și $4,4 \pm 1,14$ %, iar lotul experimental între $2,6 \pm 1,51$ și $4,2 \pm 3,03\%$, toate acestea fiind considerate în limitele normale. Bazofilele au fost întâlnite extrem de sporadic în cazul ambelor loturi, situându-se sub limitele normale, fără a avea însă o semnificație deosebită în privința stării de sănătate a păsărilor. Limfocitele, cu valori medii de $37,2 \pm 7,01$ - $40,2 \pm 8,4\%$ în cazul lotului martor și de $35,4 \pm 4,72$ - $45,4 \pm 8,64\%$ la lotul experimental, s-au încadrat de asemenea în limitele normale, conturate de unii autori (HOFFMANN, 1961). Valorile medii ale monocitelor, în cazul lotului martor au fost situate între $9,6 \pm 2,07$ și $13,6 \pm 8,76\%$, iar pentru lotul experimental între $6 \pm 2,91$ și $10,2 \pm 2,38\%$, evoluând în standarde, cu excepția unor valori ale unor indivizi din lotul martor situate ușor peste limitele fiziologice, spre finalul experimentului. Hematocritul, a prezentat valori medii de $21,89 \pm 3,15$ - $37,5 \pm 4,33\%$ la lotul martor, iar la lotul experimental între 25 și 26%, fiind considerate în limitele fiziologice, doar câțiva indivizi din lotul martor au avut valori mai scăzute, spre limita inferioară. Hemoglobina a înregistrat valori medii cuprinse între $8,62 \pm 1,37$ și $21,76 \pm 6,2$ g/L la lotul martor, iar în cazul lotului experimental valorile acestui parametru a fost cuprins între $10,69 \pm 3,44$ și $19,86 \pm 2,73$ g/dL, fiind încadrabile în standardele fiziologice, cu excepția câtorva indivizi din lotul experimental, la care au depășit ușor limita superioară. În ceea ce privește valorile constantelor eritrocitare medii au fost și câteva excepții individuale care s-au situat în afara intervalelor fiziologice, dar fără conotații patologice. Astfel, mediile VEM a au fost cuprinse între $84,77 \pm 45,13$ și $147,56 \pm 39,43$ fl la lotul martor și între $109,48 \pm 39,45$ și $117,63 \pm 58,34$ fl la lotul experimental, ale HEM între $37,04 \pm 7,54$ și $82,3 \pm 14,65$ pg, respectiv între $46,8 \pm 9,59$ pg și $61,79 \pm 27,93$ pg, iar ale CHEM între $39,63 \pm 6,38$ g/dl și $71,87 \pm 52,65$ g/dl, respectiv între $42,76 \pm 13,76$ și $54,62 \pm 9,95$ g/d.

Aceste date au relevat valori mai crescute ale constantelor eritrocitare medii la lotul martor decât la cel experimental, depășind limitele fiziologice superioare. Există o relație negativă între HEM, CHEM și numărul de eritrocite, în mod normal o cantitate ridicată de Hb determinând creșterea CHEM, dar nu și a numărul de eritrocite. După cum reiese din cele prezentate, ansamblul valorilor hematologice înregistrate s-a caracterizat prin oscilații, cu valori semnificative statistic și încadrabile în intervalele fiziologice ale speciei (GYLSTORFF,1983).

Capitolul VII (Studiul 2), denumit „*Investigarea hematopoiezei la embrionii și puii de găină*”, s-a bazat pe evaluări microscopice ale profilului citologic la eșantioanele de embrioni și pui Broiler nou-eclozați, relevând unele aspecte semnificative pentru caracterizarea morfofiziologică a nișelor celulare cu funcții hematopoietice, difuzate în diverse organe. Analiza eritropoiezei la păsări, relevă că acest proces se continuă intravascular sau intra sinusoidal, ceea ce face ca rubricitele să poată fi găsite ocazional și în sângele periferic al animalelor sănătoase (CAMPBELL și colab., 2007). Procentul de reticulocite găsit în sângele periferic al puilor sănătoși a fost mai mare decât la majoritatea speciilor de mamifere. În urma investigațiilor efectuate am confirmat că în sângele aviar și unele organe hematoformatoare, precum ficatul, pot fi evidențiate în preajma eclozării nișe celulare progenitoare, care contribuie la desăvârșirea hematopoiezei definitive (Fig.1).

Măduva osoasă embrionară devine principalul organ eritropoietic începând cu zilele 12-15 embrionare, cu toate că sacul vitelin își menține funcția eritropoietică până în perioada perieclozională (NAGAI și SHENG, 2008). Am relevat totodată că, spre deosebire de mamifere, hematopoieza embrionară hepatică la păsări se realizează predominant pe linia granulocitară și mai puțin pe cea eritrocitară. Din imaginile obținute a reieșit că, alături de măduva osoasă, ficatul și splina (Fig. 1 A,B; Fig. 2 A,B) au contribuții minore în hematopoieza definitivă. Noi nu am surprins insule de celule progenitoare în pulmon, rinichi sau pancreas, deși alți cercetători în domeniu au raportat date în această privință.

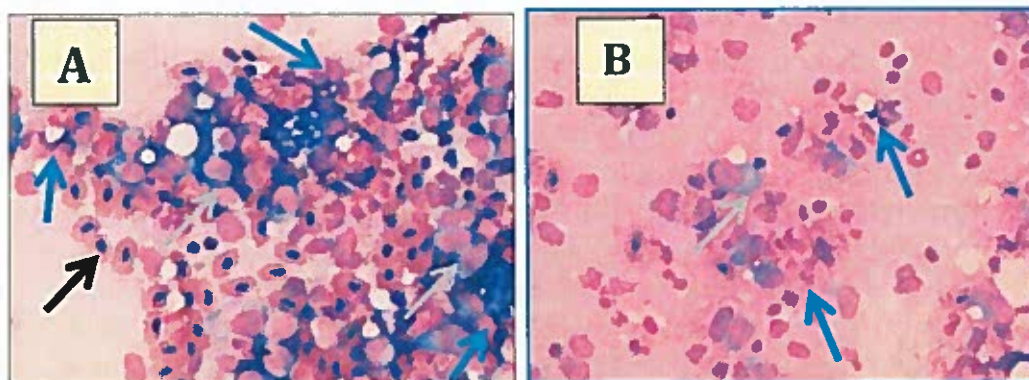


Fig. 1. Celule hematopoietice progenitoare hepatice la pui broiler peri-eclozare. Săgeata albastră-precursori linia granulocitară; săgeată neagră-eritrocite mature; săgeată verzuie-eritrocite imature (Col. Diff-Quick, 100x) (original).

Colonizarea tardivă a celulelor granulocitare în țesutul conjunctiv hepatic fetal a fost evidențiată și la țestoasă (*Emys orbicularis L*), respectiv la șoarece, sugerând o conservare filogenetică între aceste vertebrate și găini (AYRES-SILVA și colab., 2011).

Cu toate acestea, este puțin probabil ca progenitorii granulocitari la șoareci să ajungă cu întârziere din sacul vitelin în ficatul fetal (AYRES-SILVA și colab., 2011).

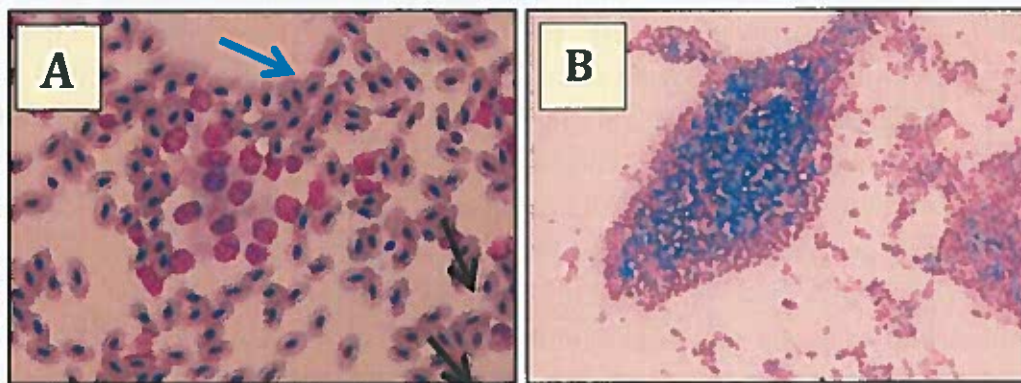


Fig. 2. Aspecte ale hematopoezei hepatice (A) și splenice (B) la E 20; celule progenitoare granulopoietice (Săgeata neagră) și eritrocite mature (Săgeata albastră) (Col. Diff-Quick, 100x) (Original).

Capitolul VIII (Studiul 3), intitulat „Evaluarea compatibilității sanguine la păsările testate”, a fost axat, în principal, pe testarea compatibilității sanguine intra- și interspecifice, incluzând 110 teste încrucișate, dintre care 55 de Crossmatch major, la care am înregistrat 8 reacții pozitive, reprezentând 14,54%. Reacțiile pozitive au prezentat diferite intensități de aglutinare, de la 1+ la 4+ (Fig. 3). În contrast, la testele de Crossmatch minor nu am obținut reacții pozitive, aglutinările fiind absente la toate combinațiile investigate.

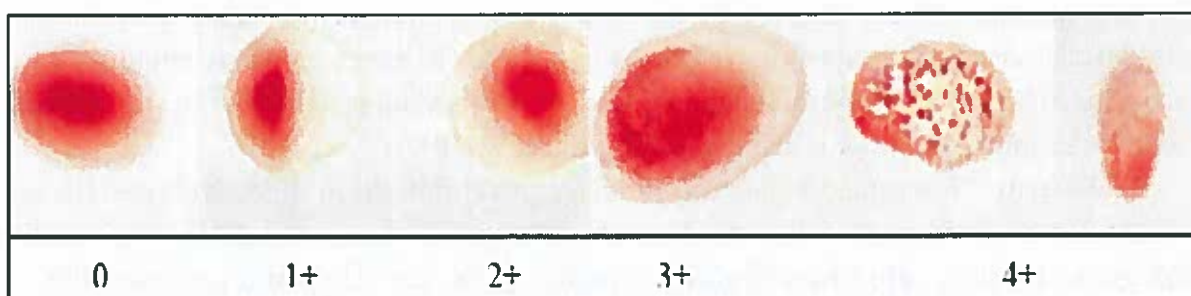


Fig. 3. Aspecte macroscopice ale intensității reacțiilor de aglutinare (Original).

Conform rezultatelor obținute, combinațiile omoloage dintre puii de găină nu au evidențiat incompatibilitate, aceiași evoluție având și combinațiile omoloage dintre curci. Conform acestor rezultate, indivizii din aceeași specie nu au Ac preformați împotriva Ag diferitelor grupe sanguine ale speciei (ALTMAN, 1982). Cu alte cuvinte, indiferent de apartenența lor la un sistem de grup sanguin, indivizii din aceeași specie nu ar trebui să manifeste incompatibilitate la prima transfuzie (OGNEAN, 2017).

Totodată, am constatat că nu există o corelație pozitivă între compatibilitatea sângelui și apartenența la aceleași ordin (în studiul nostru *Galliformes*, *Anseriformes*, *Columbiformes*). De remarcat este și compatibilitatea dintre sângele curcilor și găștelor testate. Spre deosebire, combinațiile dintre curcă/rață, curcă/pui de găină și rață/pui de găină care au prezentat grade diferite de incompatibilitate. Au existat de asemenea, variații individuale privind nivelul de compatibilitate, rata de incompatibilitate heterologă nefiind 100% (BOWLES și colab., 2007; DEGERNES și colab., 2004).

În ceea ce privește analiza comparativă a parametrilor hematologici ai păsărilor utilizate în studiul antigenității eritrocitare, am relevat variații ale tuturor parametrilor investigați, atât individuale, cât și de apartenență la grupul filogenetic. La rațe am înregistrat cele mai ridicate valori ale parametrilor eritrocitari. Cu toate că parametri eritrocitari și leucocitari au prezentat oscilații în afara limitelor fiziologice, la examinarea clinică nu am semnalat manifestări de boală la nici o pasăre. Prin aceste date reconfirmăm binecunoscuta ipoteză, care consideră că păsările sunt rezistente la multe disfuncții organice, manifestările clinice însoțite de modificări hematologice, relevând în cazul acestora oscilații extreme, cu valori reduse sau crescute. Menționăm de asemenea că, hemogramele obținute nu au putut fi întotdeauna interpretate, datorită perturbării anumitor parametri hematologici în stări de anemie sau hiper Cromatoză. Asocierea dintre aceste stări patologice a fost remarcată la mai multe dintre păsările incluse în acest studiu.

Capitolul IX (Studiul 4), denumit „**Analiza acțiunii hematologice și probiotice a Biolactoromului**”, se axează pe administrarea acestui nutraceutic, timp de 45 zile, la puii sănătoși și cu risc de anemie. Rezultatele obținute au relevat evoluții relativ importante și semnificative statistic ale indicilor eritrocitari, corelate cu influențele benefice ale Biolactoromului asupra tabloului hematologic și funcțiilor hematopoietice. Evoluția profilului leucocitar s-a caracterizat de asemenea, prin oscilații semnificative statistic, situate spre limita superioară a standardelor fiziologice. Aceste evoluții au fost asociate cu lipsa stărilor patologice, indicând implicarea nutraceuticelor în stimularea și susținerea imunității la puii Broiler (SUGIHARTO, 2016).

Referitor la acțiunea Biolactoromului asupra simbioșilor digestivi la puii Broiler, remarcăm că, în fecalele puilor din lotul martor, am relevat predominarea bacteriilor din genul *Bacillus*, cele Gram negative atingând 80%, iar cele Gram pozitive 40%. La acestea s-au adăugat filamente, bacterii lactozo-negative și coliforme. Coloniile formate au fost de dimensiuni mari, medii și mici, netede sau mucoase (Fig. 4). Numărarea coloniilor a relevat valori maxime de 860 milioane de UFC și minime de 430 milioane UFC, media fiind de $645,08 \times 10^6$ UFC. În probele coproparazitologice ale puilor din lotul experimental, suplimentat cu Biolactorom, am identificat doar colonii mijlocii și mici. Față de lotul martor, la nivelul coloniilor a fost semnalată prezența unor filamente subțiri aparținând genului *Lactobacillus*.

În toate culturile au fost identificați bacili Gram pozitivi (100%), precum și bacili sau cocobacili Gram negativi, dar într-o proporție mult mai redusă (60%) și lipsa germenilor patogeni (BUTA, 2019). În privința numărului de colonii, la lotul experimental s-a remarcat o valoare maximă de 688 milioane UFC, respectiv o minimă de 113,4 milioane UFC, media de 315,28 milioane UFC, fiind mult mai scăzută decât la lotul martor. Conform acestor rezultate, lotul experimental s-a detașat deci, prin rezultate microbiologice predominant superioare, cu un caracter benefic mai evident decât la lotului martor. Microbiota comensală din intestinul păsărilor este deosebit de importantă pentru funcționarea mecanismele de apărare înăscute și dobândite (BUTA, 2019), ceea ce se corelează cu rezultatele examenelor clinice și coproparazitologice din studiul nostru, care au relevat o bună starea generală și teste parazitologic negative.

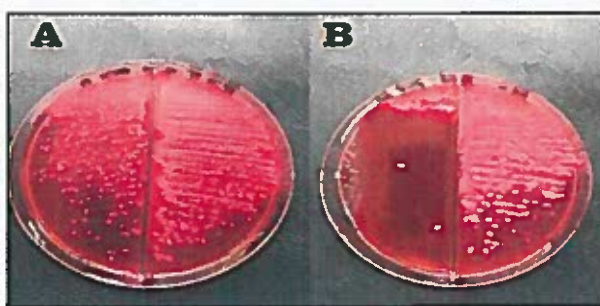


Fig. 4. Aspecte privind numărarea coloniilor pe agar McConkey - lot experimental (A) și lot martor (B)

La finalul studiilor experimentale produsului Biolactorom a fost implementat și în creșterea intensivă a puilor Broiler, impactul major revenind evoluției principalelor indici de performanță productivă: vârsta medie de sacrificare, greutatea medie, sporul mediu zilnic, mortalitatea, RCF (Rata de Conversie a Furajelor) și IEE (Indicele European de Eficiență) (SUGIHARTO, 2016). Acest studiu a relevat că efectivul de pui suplimentați cu Biolactorom a prezentat valori superioare ale parametrilor de performanță față de efectivul martor, dar foarte apropiate de nivelele medii pe fermă. Astfel, sporul mediu zilnic și mortalitatea au înregistrat nivele ușor crescute la efectivul martor, iar IEE a depășit pragul minimal de 370, în cazul ambelor eșantioane, atingând nivelul de 396.

Concluziile generale și recomandările, formulate în urma analizei și grupării rezultatelor obținute, au constituit un ansamblu succint, care desăvârșește conținutul tezei.

Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei, finalizează cercetările personale prin sintetizarea principalelor noutăți și elemente de originalitate, analizând caracterul inovativ al investigațiilor și testărilor efectuate, precum și aportul rezultatelor obținute la îmbogățirea datelor din literatura de specialitate.

Bibliografia grupează un număr important de titluri (260), adecvate documentărilor și investigațiilor efectuate și mai ales, rezultatelor obținute, discuțiilor și interpretărilor efectuate.

Bibliografie selectivă

1. AHMED M. AL-NEDAWI, 2018, Reference hematology for commercial Ross 308 broilers. *In: Online Journal of Veterinary Research, Vol. 22 (7): 566-570.*
2. ALTMAN RB, 1982, *Heterologous blood transfusions in avian species. Proc Annu Conf Assoc Avian Vet: 7-8.*
3. BOUNOUS D.I., N.L. STEDMAN, 2000, Normal avian hematology. *In: Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC (eds), Schalm's Veterinary Hematology, 5th edn. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, p. 1145-1154.*
4. BUTA BUTA ANDREEA, O. OVIDIU, DARADICS ZSOFIA, TAMAS-KRUMPE OCTAVIA, UIUIU P., OGNEAN L., 2019, The Analyse of the Liver and Bone Marrow Hematopoietic Activity in Broiler Chickens During Hatching Period. *Proceedings of The Multidisciplinary Conference on Sustainable Development: 151-157.*
5. BOWLES H, LICHTENBERGER M, LENNOX A, 2007, Emergency and critical care of pet birds. *Vet Clin North Am (Exotic Anim Pract) 10: 345-394.*
6. CAMPBELL T., ELLIS C., APPENDIX B, 2007, *Avian and Exotic Animals Hematology and Cytology, Ed. Blackwell;*
7. DEGERNES L. A., CROSIER M. L., HARRISON L. D., DENNIS P. M., DIAZ D. E., 1999, Autologous, homologous, and heterologous red blood cell transfusions in cockatiels (*Nymphicus hollandicus*). *Journal of Avian Medicine and Surgery: 2-9.*
8. DOUGL AS J. WEISS, K. JANE WARDROP, 2011, Schalm's Veterinary Hematology, *Ed. Blackwell Publishing.* EUROPEAN NUTRACEUTICAL ASSOCIATION (ENA), 2016, Science behind Nutraceuticals. *In E. N. Association (Ed.), (Vol. 2016), Basel, Switzerland.*
9. GUOJUN SHENG, 2010, Primitive and definitive erythropoiesis in the yolk sac: a bird's eye view. *Int. J. Dev. Biol. 54(6-7):1033-43.*
10. NAGAI H. și SHENG G., 2008, Definitive erythropoiesis in chicken yolk sac. *Dev Dyn 237: 3332-3341.*
11. OGNEAN L., 2017, Actualități în antigenitatea eritrocitară și transfuzia sanguină la animale, *Edit. Colorama, Cluj Napoca.*
12. SUGIHARTO S., 2016, Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 15 (2): 99-111.*