

REZUMAT

al tezei de doctorat intitulată:

PROFILURI IMUNOLOGICE LA CÂINI DONATORI DE SÂNGE

Doctorand: **IONESCU Teodor-Ștefan**

Conducător științific: **Prof. Univ. Dr. DANEȘ Doina**

Cuvinte cheie: profil imunologic, ELISA, bancă de sânge, câini donatori de sânge, antigenul DEA 1, paraziți transmiși prin vectori, anticorpi post-vaccinali

Scopul principal al cercetărilor a fost conturarea profilului imunologic al donatorului de sânge canin cu scopul de a contribui la dezvoltarea acestei ramuri din medicina veterinară. Experimentele din cadrul tezei au urmărit mai multe planuri, după cum urmează: determinarea prevalenței grupei de sânge DEA 1 în rândul donatorilor de sânge canini participanți la banca de sânge pentru animale de companie din România; stabilirea prevalenței infecției cu *Dirofilaria immitis*, *Anaplasma phagocytophilum* / *Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis* / *Ehrlichia ewingii* și *Borrelia Burgdorferi* în rândul donatorilor de sânge canini participanți la banca de sânge pentru animale de companie din România și studierea dinamicii anticorpilor postvaccinali în rândul donatorilor de sânge canini participanți la banca de sânge pentru animale de companie din România prin analizarea răspunsului imun antirabic, examinarea dinamicii anticorpilor împotriva *Leptospira spp*, studiul dinamicii răspunsului imun împotriva parvovirusului canin și a virusului maladiei Carré și cercetarea dinamicii anticorpilor împotriva adenovirusului canin și a virusului parainfluenței canine la câinii donatori de sânge.

Teza de doctorat intitulată „**Profiluri imunologice la câini donatori de sânge**” a fost structurată în conformitate cu prevederile legale în cele două părți principale, partea I – Cercetări bibliografice și partea a doua – Cercetări proprii.

Partea întâi cuprinde patru capitole prezentate într-un număr de 34 de pagini, reprezentând aproximativ 28% din totalul tezei de doctorat, capitole care descriu cele mai de actualitate date despre tema studiului, care sunt susținute, suplimentar, și de informații din trecut.

Capitolul I („*Terapia transfuzională în medicina veterinară*”) este alcătuit din două subcapitole și prezintă detaliile cele mai importante din terapia transfuzională în

medicina veterinară, pornind de la prima transfuzie efectuată de la un animal la alt animal și terminând cu practici curente în transfuziologia veterinară.

Practicile actuale în terapia transfuzională veterinară pun accentul în principal pe utilizarea subproduselor sangvine, a testelor de tipizare a grupei de sânge și a testelor de compatibilitate.

Practicile actuale în băncile de sânge veterinar se axează pe modalitatea de selecție și de monitorizare a donatorilor canini (screening-ul pentru boli infecțioase cu transmitere prin vectori și tipizarea grupei de sânge ca și practică curentă), subliniind totodată creșterea nivelului de monitorizare al donatorilor de sânge comparativ cu ce era raportat anterior, creștere datorată îmbunătățirii nivelului de cunoștințe și înțelegere cu privire la practicile necesare pentru ca o transfuzie de sânge să fie efectuată în condiții de siguranță.

În **capitolul II** („*Grupele de sânge la câine și metode de determinare a grupelor de sânge la câine*”) sunt descrise în cele patru subcapitole ale sale grupele de sânge la câine, metodele de identificare ale acestora prin teste de laborator și este creionat profilul unui *donator universal* de sânge canin din punct de vedere al antigenelor dezirabile.

Sistemul DEA este descris mai pe larg, punctându-se importanța antigenului DEA 1, cel pentru care există la momentul actual și teste comerciale disponibile în spitalele și clinicile veterinare. De asemenea, sunt menționate și alte antigene cu semnificație în transfuziologia veterinară: Dal, Kai, Sistemul D cu antigenele D1 și D2, tipul C. Cunoștințele curente asupra acestor antigene noi și mai puțin cunoscute sunt încă limitate, iar prevalența lor este încă nedeterminată și insuficient studiată pentru a le putea aprecia importanța în actul transfuzional, însă medicii veterinari practicieni trebuie să fie conștienți de posibilitatea sensibilizării cu ocazia actului transfuzional pentru o mare varietate de antigene ale celulelor roșii chiar și atunci când se transfuzează sânge de grupa DEA 1 negativ, așa-zisul sânge de donator universal.

Metodele de identificare a grupei de sânge/a antigenului DEA 1 prezentate succint sunt reprezentate de teste care nu se mai folosesc actual în medicina veterinară, dar au reprezentat un punct de plecare pentru crearea testelor actuale, precum este metoda de identificare a grupelor de sânge în tuburi, și de metode actuale de tipizare a grupei de sânge, precum metoda cardurilor de tipizare de sânge (Rapid Vet) și metoda imunocromatografică (Alvedia), terminând cu metoda de tipizare automată a grupelor de sânge, cea mai recent dezvoltată metodă.

Cel mai voluminos capitol din prima parte a tezei este **capitolul III** („*Selecția și statusul biologic al donatorilor de sânge canini*”) care este alcătuit din două subcapitole în care este descris procesul de selecție al donatorilor canini de sânge, pornind de la proveniența donatorilor și terminând cu criteriile de selecție a acestora, accentul fiind pus pe particularitățile individuale, pe controlul statusului sanitar al donatorului canin

și, nu în ultimul rând, pe investigațiile biologice premergătoare recoltării de sânge, mai precis a investigării pentru boli infecțioase transmisibile prin vectori.

Majoritatea băncilor de sânge din cadrul clinicilor veterinare se bazează pe o combinație de surse în ceea ce privește donatorii de sânge: animalele angajaților clinicii, pacienții clinicii, dar și așa-zisa „colonie de donatori”, câini special achiziționați pentru a menține programul de donare din cadrul clinicii sau a băncii de sânge.

Criteriile unui donator de sânge canin dezirabil țin de vârstă (1 – 8 ani), greutate (peste 22.7 kg), istoric medical (fără transfuzii de sânge anterioare, fără medicație curentă, fără o gestație curentă), status negativ pentru bolile infecțioase transmisibile prin vectori (*Babesia spp.*, *Ehrlichia spp.*, *Neorickettsia spp.*, *Leishmania spp.*, *Trypanosoma cruzi*, *Brucella canis*, *Dirofilaria immitis*), protejat de purici, căpușe și țânțari, vaccinat conform schemelor de vaccinare agreate la nivelul țării în care locuiește, cu temperament calm, docil și cu un proprietar responsabil, de încredere și implicat în oferirea condițiilor optime de bunăstare animalului.

Capitolul IV („Răspunsul imun postvaccinal la câine”) este alcătuit din trei subcapitole și expune succint elemente ale răspunsului imun postvaccinal la câine, punându-se accentul pe răspunsul imun și anticorpi, memoria imunologică și toleranța imunologică.

O parte importantă a acestui capitol este reprezentată de descrierea imunizării active prin vaccinare, enumerându-se criteriile de bază ale vaccinurilor, tipurile de vaccin, a revaccinării și a duratei imunității oferite de vaccinuri, punctându-se totodată și principalele efecte adverse ale vaccinării.

Partea a II-a este structurată în trei capitole expuse în 87 pagini reprezentând aproximativ 72% din totalul tezei de doctorat. Partea de **cercetări proprii** cuprinde materialele și metodele de lucru folosite în cadrul experimentelor efectuate în teză, rezultatele și concluziile obținute, incluzând 5 figuri, 20 de grafice și 25 de tabele.

Primul capitol al acestei părți, **capitolul V** al tezei de doctorat, intitulat „Cercetări privind prevalența grupei de sânge DEA 1 în rândul donatorilor de sânge canini participanți la banca de sânge pentru animale din România” și-a propus să studieze prevalența antigenului DEA 1 în cadrul populației de donatori a unei bănci de sânge pentru animale din România, expunându-se faptul că, la momentul actual, literatura de specialitate nu oferă informații despre prevalența acestui antigen în rândul raselor de câini autohtone sau generice la nivel național, domeniul transfuziologiei și a conservării sângelui canin în cadrul unor bănci de sânge cu circuit intern sau comerciale fiind în stadiul de pionierat comparativ cu Europa de Vest sau America de Nord.

Se pune accentul pe cunoașterea diferențelor și a așa-zisei predispoziție a raselor spre o anumită grupă de sânge pentru a crește eficiența recrutării de noi donatori de sânge canini.

Studiul a avut loc în perioada ianuarie 2015 - decembrie 2016 în Laboratorul Intern din cadrul Băncii de Sânge pentru Animale de Companie Hemopet, București, România. În perioada 2015-2017, 105 dintre cei 766 donatori canini ai băncii de sânge au fost testați pentru tipizarea grupei de sânge DEA 1. Un număr total de 105 probe de sânge integral recoltat pe EDTA au fost examinate în cadrul acestui studiu, utilizând testul imunocromatografic Lab.Test BT DEA 1 (Alvedia Veterinary Diagnostic, Lyon, Franța), respectând specificațiile producătorului. Pe scurt, într-o eprubetă fără aditivi s-au pipetat 3 picături din soluția buffer din kit-ul de testare. Ulterior, s-au adăugat 10 µL din proba de sânge integral recoltat pe EDTA. Proba s-a omogenizat în eprubetă prin câteva pipetări succesive. Ulterior, stripul imunocromatografic a fost introdus în suspensia creată, celulele roșii difuzând pe toată lungimea stripului. Eritrocitele care au conținut antigenul corespunzător au format o linie vizibilă pe membrana indicatoare DEA 1 pozitiv (linie roșie în dreptul DEA 1) sau negativ (fără linie roșie în dreptul DEA 1). Timpul de așteptare pentru migrarea completă a celulelor roșii și citirea rezultatului a fost de 5 minute.

În urma evaluării rezultatelor a reieșit că prevalența grupei de sânge DEA 1 pozitiv în cadrul donatorilor testați din efectivul băncii de sânge a fost de 56.19% (59/105), rezultat în concordanță cu rezultatele studiilor de specialitate de până la acest moment la nivel internațional. Din totalul de donatori canini testați DEA 1 pozitiv, 37.29% (22/59) au fost masculi, 88.13% (52/59) au fost câini de rasă pură și 11.87% (7/59) au fost metiși.

Având în vedere rezultatele privind frecvența grupei de sânge în cadrul raselor, majoritatea câinilor din rasa Golden Retriever au avut grupa de sânge DEA 1 pozitiv (86.67%; 13/15) și, de asemenea, majoritatea câinilor din rasa Labrador Retriever (83.33%; 10/12) au avut grupa de sânge DEA 1 pozitiv.

Pentru grupa de sânge DEA 1 negativ, prevalența a fost de 93.48% (43/46) în cazul câinilor de rasă pură testați, cu precizarea că toți câinii din rasa Doberman (100%; 6/6) au avut grupa de sânge DEA 1 negativ și, de asemenea, toți câinii din rasa Bull Terrier (100%; 7/7) au avut grupa de sânge DEA 1 negativ.

Prevalența grupei de sânge DEA 1 negativ în cadrul masculilor testați a fost de 56.52% (26/46), iar în cadrul femelelor testate a fost de 43.48% (20/46).

Până la momentul actual nu există date publicate despre prevalența antigenului DEA 1 în rândul câinilor nativi din România, atât donatori, cât și primitori, astfel din acest motiv rezultatele studiului nostru nu pot fi comparate cu rezultatele altor studii asemănătoare. Tipizarea grupei de sânge în cadrul efectivului de donatori al băncii de sânge va minimiza riscurile asociate cu transfuzia de sânge la câine.

Capitolul VI intitulat „Cercetări privind prevalența infecției cu *Dirofilaria immitis*, *Anaplasma phagocytophilum*/*Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis*/*Ehrlichia ewingii* și

Borrelia burgdorferi în rândul donatorilor de sânge canini participanți la banca de sânge pentru animale din România” a avut ca scop studierea prevalenței infecției cu boli infecțioase transmisibile prin vectori la nivelul populației de câini donatori de sânge din cadrul unei bănci de sânge pentru animale de companie din România.

Noutatea acestui capitol constă în contribuția pe care o aduce la conturarea profilului imunologic al donatorului de sânge canin din România, având în vedere că medicina transfuzională și domeniul băncilor de sânge pentru animale se află încă în perioada de pionierat în țara noastră comparativ cu medicina veterinară occidentală.

Studiul a fost realizat în perioada ianuarie 2015 - decembrie 2016 în Laboratorul de Intern din cadrul Băncii de Sânge pentru Animale de Companie Hemopet, București, România și a inclus 575 de câini identificați ca potențiali donatori de sânge între luna ianuarie 2015 și luna decembrie 2016 într-o bancă de sânge pentru animale de companie din România (Banca de sânge Hemopet, București, România), dintre care 82 de câini au fost deja testați în anul 2015 și, ulterior, reevaluați la fiecare donare de sânge în anul 2016.

Doar 14% dintre toți donatorii canini au donat sânge atât în anul 2015, cât și în anul 2016 și au fost testați serologic în ambii ani, pe când 86% au fost testați în 2015 sau în 2016. Pe parcursul a 24 luni, 1253 probe de sânge au fost recoltate pentru a efectua testarea serologică prin utilizarea unui test Point-of-care ELISA: SNAP 4Dx Plus® (Idexx Laboratories, Fremont, CA) urmând instrucțiunile producătorului.

Toate probele de sânge, reagenții și testele SNAP au fost ținute pentru 30 minute la temperatura camerei (18 – 22°C) înainte de a fi folosite. Patru picături din conjugatul marcat cu enzime a fost amestecat cu trei picături de sânge integral într-un tub și au fost adăugate ulterior în godeul testului SNAP. Amestecul format din proba de sânge și conjugat curge prin matrice, interacționând cu punctele de test și control de pe suprafața matricei, ajungând la cercul de activare în aproximativ 30 – 60 secunde. Dispozitivul este apoi activat prin depresurizare sau prin activarea tip „snap”, ce are ca rezultat eliberarea soluției de spălare tampon și a soluției substrat de la nivelul rezervorului de reagent al dispozitivului. Rezultatele pozitive sunt vizualizate prin formarea produselor de reacție colorate; examinarea este completă după 6 – 10 minute, în funcție de test. Dezvoltarea culorii la nivelul controlului pozitiv indică faptul că reagenții funcționează corespunzător.

În urma analizei statistice, s-a constatat că 14.20% (50/352) câini au fost pozitivi pentru *Dirofilaria immitis* în anul 2015 și 12.13% (37/305) în anul 2016. De asemenea, s-a constatat că prevalența câinilor infestați cu *Dirofilaria immitis* retestați după prima donare (donatori deja incluși în Registrul de donatori) a fost relativ mic raportat la numărul de donatori de sânge canini: 1.32% (4/302) în anul 2015 și 1.48% (4/270) în anul 2016, în timp ce prevalența câinilor infestați cu *Dirofilaria immitis* testați înainte de

prima donare (donatori ne-incluși în Registrul de donatori) a fost relativ mare raportat la numărul potențialilor donatori selectați: 13.06% (46/352) în anul 2015 și 14.79% (33/223) în anul 2016.

Screening-ul pentru *Anaplasma phagocytophilum*/*Anaplasma platys* Ac. a relevat 1.70% (6/352) animale pozitive în anul 2015 și 1.63% (5/305) animale pozitive în anul 2016. Este de subliniat faptul că prevalența câinilor infestați cu *Anaplasma phagocytophilum*/*Anaplasma platys* retestați după prima donare (donatori deja incluși în Registrul de donatori) a fost relativ mică raportat la numărul de donatori de sânge canini: 1.13% (4/352) în anul 2015 și 0.89% (2/223) în anul 2016. De asemenea, și prevalența câinilor infestați cu *Dirofilaria immitis* testați înainte de prima donare (donatori ne-incluși în Registrul de donatori) a fost relativ mică raportat la numărul potențialilor donatori selectați: 0.66% (2/302) în anul 2015 și 1.11% (3/270) în anul 2016.

Nici unul din cei 575 câini evaluați prin cele 1253 teste imunologice efectuate pe o perioadă de 24 luni (2015-2016) nu au generat rezultate pozitive pentru Ehrlichia canis/Ehrlichia ewingii și Borrelia burgdorferi.

Rezultatele acestui capitol susțin importanța testării donatorilor canini de sânge deja existenți în baza de date a băncii de sânge, dar și a potențialilor donatori canini de sânge pentru bolile vectoriale pentru a crește siguranța actului transfuzional la câine și pentru a limita potențialele afecțiuni induse primitorului pe care transmiterea acestor boli vectoriale le-ar produce.

Capitolul VII intitulat „Cercetări privind dinamica anticorpilor postvaccinali în rândul donatorilor de sânge canini participanți la banca de sânge pentru animale din România” este structurat, la rândul său, în patru subcapitole reprezentând patru experimente diferite ce urmăresc studierea dinamicii titrului de anticorpi postvaccinali ai câinilor donatori de sânge înregistrați în baza de date a unei bănci de sânge pentru animale de companie din România.

Raportat la datele disponibile din literatura de specialitate, acest capitol reprezintă un element de noutate atât la nivel național, cât și la nivel internațional, întrucât până în prezent nu există experimente sau studii care să urmărească profilul imunologic al donatorului de sânge canin sau studii care să urmărească dinamica anticorpilor postvaccinali între donările de sânge pentru a aprecia dacă actul donării poate influența sau nu titrul de anticorpi postvaccinali.

În **primul subcapitol** și experiment intitulat „Dinamica răspunsului imun antirabic la câinii donatori de sânge” este studiată dinamica anticorpilor antirabici în cadrul populației de câini donatori ai unei bănci de sânge pentru animale de companie din România.

Studiul a fost realizat în data de 22 noiembrie 2018 în Laboratorul de Serologie din cadrul Disciplinei de Boli Infecțioase, Medicină Preventivă și Prelegeri Clinice pe Specii, Facultatea de Medicină Veterinară București, România și a analizat 76 probe de ser provenite de la 16 câini înregistrați ca donatori de sânge în cadrul Băncii de sânge pentru animale de companie Hemopet din București, România.

Statusul imunologic al donatorilor canini luați în studiu a fost evaluat utilizând metoda ELISA indirectă prin folosirea kit-ului PLATELIA™ RABIES II (BIO-RAD, Franța) urmărind indicațiile producătorului. Rezultatele au fost citite spectrofotometric la lungime de undă de 450 nm și au fost apoi înregistrate pentru analiza statistică. Densitățile optice (DO) pentru curbele diluțiilor negative, pozitive și standard au validat rezultatele.

În urma analizei statistice a rezultatelor, a reieșit că toți câinii donatori de sânge participanți la studiu au beneficiat de o schemă de vaccinare corespunzătoare, iar titrul anticorpilor antirabici în grupul de 16 donatori înregistrați ai Băncii de Sânge pentru Animale de Companie din România nu au fost influențate de donarea de sânge, astfel: 7 donatori (#1, #2, #4, #8, #9, #10, #13) au înregistrat $DO > DOC + 0.5$ la fiecare testare; 6 donatori (#6, #7, #11, #14, #15, #16) au înregistrat $DO < DOC + 0.5$ la fiecare testare și 3 donatori (#3, #5, #12) au înregistrat valori ale DO mai ridicate după vaccinare.

Al doilea subcapitol cuprinzând studiul intitulat „*Dinamica anticorpilor împotriva Leptospira spp. la câinii donatori de sânge*” își propune să evalueze statusul imun față de *Leptospira spp.* a donatorilor canini dintr-o bancă de sânge din România și să aprecieze dacă titrul de anticorpi postvaccinali este influențat de donarea de sânge și/sau de frecvența acesteia.

Studiul a fost realizat în perioada octombrie 2016 - ianuarie 2020 pe 17 câini (5 masculi și 12 femele) donatori regulați ai băncii de sânge pentru animale din România, folosind un kit de diagnostic disponibil comercial și resursele logistice ale Laboratorului de Serologie din cadrul Institutului Pasteur, București, România, prin testarea probelor de sânge prelevate la fiecare donare succesivă și folosind kit-ul de testare ELISA calitativ NovaTec VetLine Leptospira ELISA, Immundiagnostica GMBH, Germania. Donatorii au fost împărțiți în 3 grupuri: câinii cu 6 donări, câini cu 5 donări și câini cu 4 donări.

În acest studiu au fost utilizate 80 de probe de ser sanguin, alicotate și stocate la congelator (-70 - -20 °C) până la data testării (29 ianuarie 2020). În conformitate cu recomandările producătorului kitului de diagnostic, inactivarea termică a probelor nu a fost realizată. Ulterior au fost respectate recomandările producătorului, iar la calcularea rezultatelor s-a utilizat valoarea medie a absorbanței martorului Cut-off, iar pentru exprimarea rezultatelor în Unități NovaTec (NTU) s-a aplicat formula de calcul pusă la dispoziție de producător. Pentru interpretarea rezultatelor au fost luate în considerare

următoarele valori: Cut-off: 10 NTU; Pozitiv > 11 NTU; Neconcludent 9 – 11 NTU; Negativ < 9 NTU.

În urma analizei statistice s-a constatat că rezultatele studiului privind dinamica răspunsului imun la câinii care donează sânge a relevat variații nesemnificative ale anticorpilor anti-*Leptospira* pe parcursul donării repetate de sânge, rezultate consecvente cu cele raportate în cazul anticorpilor antirabici din subcapitolul anterior. Valorile NTU ale anticorpilor anti-*Leptospira* obținute la grupul de 17 donatori de sânge canini investigați nu au fost influențate semnificativ ($p < 0,005$) de numărul donărilor de sânge, însă rezultatele au arătat că nu toți câinii beneficiază de un program de vaccinare adecvat, iar vaccinarea regulată a câinilor este de cea mai mare importanță pentru protecția animalelor de-a lungul vieții.

La momentul actual nu sunt disponibile date despre evaluarea dinamicii anticorpilor serici anti-*Leptospira spp.* în cazul donatorilor canini de sânge și dacă titrul anticorpilor pentru ambele specii de *Leptospira* suferă modificări între donările de sânge, astfel că prezentul experiment nu poate fi comparat cu rezultatele altor studii sau experimente, punctându-se originalitatea și elementul de noutate adus de studiul nostru în domeniu.

În **subcapitolul trei** din capitolul VII intitulat „*Dinamica răspunsului imun față de parvovirusul canin (CPV) și virusul bolii Carré (CDV) la câinii donatori de sânge*” s-a urmărit evaluarea dinamicii anticorpilor postvaccinali anti-CPV și anti-CDV în rândul aceluiași grup de 17 donatori canini de sânge din capitolul anterior între donările de sânge pentru a stabili dacă acesta este influențat sau nu de actul donării de sânge.

Titrare pentru Parvovirus a fost realizată în decembrie 2019, iar cea pentru virusul bolii Carré a fost realizat în ianuarie 2020. Ambele studii au fost realizate în Laboratorul de Serologie din cadrul Institutului Pasteur, București, România. Probele de ser ($n = 80$) au fost recoltate de la donatori canini sănătoși ($n = 17$; 5 masculi și 12 femele) care sunt donatori regulați ai băncii de sânge din România. Statusul imun al donatorilor canini investigați a fost evaluat folosind kiturile ELISA calitativ VetLine Canine Parvovirus (CPV) și VetLine Canine Distemper Virus (CDV) de la NovaTec (Immundiagnostica GMBH, Germania), urmărindu-se specificațiile producătorului. Rezultatele au fost citite spectrofotometric la lungime de undă de 450 nm. Pentru interpretarea rezultatelor au fost folosite ca și ghid următoarele valori: pentru CPV (Pozitiv la > 11 NTU; Neconcludent la 9 – 11 NTU; Negativ la < 9 NTU), iar pentru CDV (Pozitiv la > 7 NTU; Neconcludent la 6 – 7 NTU; Negativ la < 6 NTU), unitatea de măsură NTU fiind calculată după metoda descrisă de producător.

În urma analizării rezultatelor, s-a constatat că în cazul CPV, vederea de ansamblu asupra rezultatelor NTU au relevat variații nesemnificative în cadrul grupului de valori D1-D6 ($p < 0,01$, $F < F_{crit}$), iar valorile NTU au fost peste pragul minim folosit ca valoare

de referință (>9 NTU) în cadrul tuturor grupurilor, variind între 10.03 NTU și 23.55 NTU. Un singur câine (BNA11FP) a avut o valoare NTU neconcludentă (9-11 NTU) pentru Parvovirusul canin la 3 din cele 5 donări de sânge (10.03; 10.78; 10.55), înregistrând o valoare booster de 12.78 NTU consecutiv vaccinului anual, însă este de subliniat faptul că valoarea NTU nu a scăzut niciodată sub pragul de 9 NTU pentru ca donatorul să fie considerat neprotejat de anticorpii induși de vaccin. În cazul CDV, vederea de ansamblu asupra rezultatelor NTU a relevat, variații nesemnificative între și în cadrul grupurilor D1-D6 ($p < 0.01$, $F < F$ crit), iar valorile NTU au fost peste valoarea minimă de referință folosită (>6 NTU) pentru toate grupurile, variind între 8.39 NTU și 44.45 NTU, fără ca nici un donator să fi avut valori neconcludente (6-7 NTU) la nici una dintre donările de sânge în toate cele trei grupuri analizate, sugerând astfel o imunizare optimă a donatorilor canini chiar și în cazul donărilor frecvente de sânge.

În literatura domeniului nu sunt disponibile date referitoare la dinamica anticorpilor serici anti-CPV și anti-CDV în cazul donatorilor canini de sânge, respectiv dacă titrul anticorpilor pentru ambele virusuri suferă modificări între donările de sânge, astfel că prezentul experiment nu poate fi comparat cu rezultatele altor studii sau experimente, reprezentând un element de noutate în domeniu atât la nivel național, cât și la nivel internațional.

Subcapitolul patru al capitolului VII intitulat „*Dinamica anticorpilor împotriva adenovirusului canin (CAV) și a virusului parainfluenței canine (CPiV) la câini donatori de sânge*” vine să completeze rezultatele obținute în subcapitolele anterioare și să ofere, astfel, o imagine de ansamblu asupra profilului imunologic al donatorului de sânge canin, urmărind dinamica anticorpilor postvaccinali anti-CAV și anti-CPiV între donările de sânge.

Studiul privind dinamica anticorpilor anti-CPiV la câinii donatori de sânge a fost realizat în perioada octombrie 2016 - martie 2020 în Laboratorul de Serologie din cadrul Institutului Pasteur, București, România, folosind tehnica ELISA calitativă (NovaTec VetLine Parainfluenza Virus ELISA, Immundiagnostica GMBH, Germania) conform procedurii de lucru recomandate de producător, iar studiul privind dinamica anticorpilor anti-CAV a fost realizat în perioada octombrie 2016 - iunie 2021 în cadrul disciplinei de Boli infecțioase și medicină preventivă, Facultatea de Medicină Veterinară din București, România, folosind tehnica ELISA calitativă (Canine Adeno Virus Ab ELISA, DRG International, Inc., USA), conform procedurii de lucru recomandate de producător.

Conform rezultatelor obținute, s-a observat că nu în toate serurile prelevate de la câini care au fost vaccinați în urmă cu 2-6 luni s-au detectat titruri de anticorpi mai mari anti-CPiV de 9 NTU ($n=10$, 12,5%), dar heterogenitatea și numărul redus al subiecților cu rezultate ELISA negative nu au putut fi asociate numărului de donări de sânge, iar în

urma analizei statistice se constată că numărul donărilor nu a influențat semnificativ ($p < 0,05$) interpretarea rezultatelor ELISA (adică, pozitiv, neconcludent sau negativ).

Din 80 teste ELISA efectuate pentru aprecierea dinamicii titrurilor anticorpilor anti-CAV, 23 teste au furnizat rezultate negative (din care 10 la câini vaccinați cu 2-6 luni înaintea donării de sânge și 13 la câini vaccinați cu >6 luni înaintea donării de sânge), 8 seruri au avut rezultate neconcludente (din care 6 la câini vaccinați cu 2-6 luni înaintea donării de sânge și 2 la câini vaccinați cu >6 luni înaintea donării de sânge) și 49 seruri au avut rezultate pozitive (din care 30 la câini vaccinați cu 2-6 luni înaintea donării de sânge și 19 la câini vaccinați cu >6 luni înaintea donării de sânge). Rezultatele obținute astfel relevă variații ne semnificative ale anticorpilor anti-CPiV pe parcursul donării repetate de sânge, rezultate consecvente cu cele raportate în cazul anticorpilor antirabici, anti-CPV, anti-CDV și anti-*Leptospira* spp. din subcapitolele anterioare.

Capitolul VIII este dedicat *concluziilor generale și recomandărilor* formulate pe baza rezultatelor obținute în cadrul studiilor și experimentelor prezentate.

Bibliografia tezei cuprinde 210 surse bibliografice, din care aproximativ 10% din ultimii 4 ani (2020-2024 inclusiv) și 42% din ultimii 10 ani (2014-2024 inclusiv).

Prezenta teză aduce cu sine următoarele **elemente de originalitate**:

- Determinarea prevalenței grupe de sânge DEA 1 în rândul donatorilor de sânge canini participanți la banca de sânge pentru animale de companie din România.
- Stabilirea prevalenței infecției cu *Dirofilaria immitis*, *Anaplasma phagocytophilum*/*Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis*/*Ehrlichia ewingii* și *Borrelia burgdorferi* în rândul donatorilor de sânge canini participanți la banca de sânge pentru animale de companie din România.
- Studiarea dinamicii anticorpilor postvaccinali (prin analizarea răspunsului imun antirabic, examinarea dinamicii anticorpilor anti-*Leptospira* spp., anti-CPV și anti-CDV, anti-CAV și anti-CPiV) în rândul donatorilor de sânge canini participanți la banca de sânge pentru animale de companie din România pentru a evalua potențialul efect al donării repetate de sânge asupra acestuia și a eventualei necesități de instituire a unei scheme de vaccinare speciale pentru câinii donatori de sânge.