

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ
VETERINARĂ "ION IONESCU DE LA BRAD", IAȘI
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ
ȘCOALA DOCTORALĂ DE MEDICINĂ VETERINARĂ
DOMENIUL DE DOCTORAT: MEDICINĂ VETERINARĂ
SPECIALIZAREA: OBSTETRICĂ ȘI ANDROLOGIE VETERINARĂ**

TEZĂ DE DOCTORAT

**Conducător științific de doctorat,
Prof.Univ.dr. Dan DRUGOCIU**

**Doctorand,
Crivei Ioana - Cristina**

2017

**UNIVERSITY OF APPLIED LIFE SCIENCES AND ENVIRONMENT
"ION IONESCU DE LA BRAD", IAȘI
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE
DOCTORAL SCHOOL OF VETERINARY MEDICINE
DOMAIN: VETERINARY MEDICINE
SPECIALIZATION: OBSTETRICS AND VETERINARY ANDROLOGY**

DOCTORAL THESIS

**PhD Coordinator,
Prof. PhD Dan DRUGOCIU**

**PhD Student,
Crivei Ioana - Cristina**

2017

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ
VETERINARĂ “ION IONESCU DE LA BRAD”, IAȘI
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ
ȘCOALA DOCTORALĂ DE MEDICINĂ VETERINARĂ
DOMENIUL DE DOCTORAT: MEDICINĂ VETERINARĂ
SPECIALIZAREA: OBSTETRICĂ ȘI ANDROLOGIE VETERINARĂ**

Cercetări privind sindromul de anafrodizie la vacă

**Conducător științific de doctorat,
Prof.Univ.dr. Dan DRUGOCIU**

**Doctorand,
Crivei Ioana - Cristina**

2017

**UNIVERSITY OF APPLIED LIFE SCIENCES AND ENVIRONMENT
"ION IONESCU DE LA BRAD", IAȘI
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE
DOCTORAL SCHOOL OF VETERINARY MEDICINE
DOMAIN: VETERINARY MEDICINE
SPECIALIZATION: OBSTETRICS AND VETERINARY ANDROLOGY**

Researches regarding Anestrus Syndrome in Dairy Cattle

**PhD Coordinator,
Prof. PhD Dan DRUGOCIU**

**PhD Student,
Crivei Ioana - Cristina**

2017

“Unele lucruri probabil se schimbă, dar noi începem și sfârșim cu familia.”
Anthony Brandt

CUPRINS

INTRODUCERE.....	12
REZUMAT	16
CAPITOLUL I. RELUAREA FUNCȚIEI DE REPRODUCERE ÎN PERIOADA POSTPARTUM ȘI AFECȚIUNILE CARE FAVORIZEAZĂ APARIȚIA SINDROMULUI DE ANESTRU, LA VACILE DE LAPTE.....	27
1.1. Involuția uterină și reluarea activității ovariene.....	27
1.1.1. Involuția uterină.....	27
1.1.2. Reluarea activității ovariene în perioada postpartum, la vacile de lapte ...	30
1.1.3. Controlul endocrin al funcției de reproducere în perioada postpartum, la vacile de lapte	32
CAPITOLUL II. SINDROMUL DE ANESTRU LA VACĂ	34
2.1. Factorii care influențează apariția sindromului de anestru	34
2.1.1. Inflamațiile uterine acute și cronice la vacă	34
2.1.2. Nutriția și condiția corporală	41
2.1.3. Prezența vițelului (Suptul)	43
2.1.4. Factorii de stres	43
2.1.5. Producția de lapte	44
2.1.6. Rasa, genotipul și paritatea	45
2.1.7. Alte cauze directe și indirecte de apariție a sindromului de anestru la vacile de lapte.....	46
2.2. Definirea, clasificarea, diagnosticul, terapia și prevenirea sindromului de anestru la vacile de lapte.....	47
2.2.1. Formele fiziologice de anestru	47
2.2.2. Formele patologice de anestru	49
2.2.3. Diagnosticul, terapia și prevenirea sindromului de anestru la vacile de lapte.....	52
CAPITOLUL III. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE TEZEI	57
CAPITOLUL IV. CERCETĂRI PRIVIND DETERMINAREA PREVALENȚEI OVARIPATIILOR ȘI INFLUENȚA TRATAMENTELOR HORMONALE ASUPRA PERIOADEI DE REPRODUCERE, LA VACILE DE LAPTE.....	59

4.1. Material și metodă	59
4.1.1. Studiu privind determinarea prevalenței ovaripatiilor la vacile de lapte ..	59
4.1.2. Studiu privind efectul tratamentelor hormonale asupra perioadei de reproducere, la vacile de lapte	60
4.2. Rezultate și discuții.....	60
4.2.1. Rezultate și discuții cu privire la studiul retrospectiv privind determinarea prevalenței ovaripatiilor la vacile de lapte	60
4.2.2. Rezultate și discuții privind efectul tratamentelor hormonale asupra perioadei de reproducere, la vacile de lapte.....	64
4.3. Concluzii parțiale	68
CAPITOLUL V. CERCETĂRI PRIVIND AFECȚIUNILE UTERINE CA FACTORI DE INFECUNDITATE LA VACILE DE LAPTE	69
5.1. Material și metodă	69
5.1.1. Observații privind prevalența afecțiunilor din sfera genitală și stabilirea prin metode complementare a diagnosticelor, la vacile de lapte	69
5.1.2. Izolarea, identificarea și determinarea sensibilității la antibiotice a germenilor implicați în endometritele clinice	70
5.1.3. Analiza fenotipică și moleculară a unor tulpini de entrobacterii asociate cu rezistența crescută la antibioticele betalactamice.....	73
5.2. Rezultate și discuții.....	76
5.2.1. Rezultate și discuții cu privire la prevalența afecțiunilor din sfera genitală și stabilirea prin metode complementare a diagnosticelor, la vacile de lapte	76
5.2.2. Rezultate și discuții cu privire la izolarea, identificarea și determinarea sensibilității la antibiotice a germenilor implicați în endometritele clinice	78
5.2.3. Rezultate și discuții cu privire la analiza fenotipică și moleculară a unor tulpini de entrobacterii asociate cu rezistența crescută la antibioticele betalactamice.....	82
5.3. Concluzii parțiale	83
CAPITOLUL VI. CERCETĂRI PRIVIND PRINCIPALELE AFECȚIUNI CE GENEREAZĂ SINDROMUL DE ANESTRU LA VACILE DE LAPTE	84
6.1. Material și metodă	84
6.2. Rezultate și discuții.....	86
6.3 CONCLUZII PARȚIALE	101
CAPITOLUL VII. CERCETĂRI PRIVIND DIAGNOSTICUL ECOGRAFIC ȘI TRATAMENTUL SINDROMULUI DE ANESTRU, LA VACILE DE LAPTE	102
7.1. Material și metodă	102

7.1.1. Observații privind diagnosticul ecografic al sindromului de aneștru, la vacile de lapte	102
7.1.2. Observații privind evaluarea răspunsului la tratamentele hormonale aplicate la vacile diagnosticate cu aneștru postpartum.....	103
7.2. Rezultate și discuții.....	104
7.2.1. Observații privind diagnosticul ecografic al sindromului de aneștru, la vacile de lapte	104
7.2.2 Observații privind evaluarea răspunsului la tratamentele hormonale aplicate la vacile diagnosticate cu aneștru postpartum.....	109
7.3 Concluzii parțiale	113
CAPITOLUL VIII. CERCETĂRI PRIVIND IMPLICAȚIILE ECONOMICE ȘI IMPLEMENTAREA UNEI MĂSURI MODERNE DE PREVENIRE A SINDROMULUI DE ANEȘTRU, LA VACILE DE LAPTE	114
8.1. Material și metodă	114
8.2. Rezultate și discuții.....	115
8.3 Concluzii parțiale	134
CAPITOLUL IX. CONCLUZII FINALE, RECOMANDĂRI, LIMITELE STUDIULUI ȘI PERSPECTIVE DE CERCETARE	136
BIBLIOGRAFIE	144
ANEXA 1. LISTA ABREVIERILOR	159
ANEXA 2. LISTA TABELELOR	161
ANEXA 3. LISTA FIGURILOR.....	166
ANEXA 4. LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE	170

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	14
ABSTRACT	21
CHAPTER I. RESUMPTION OF REPRODUCTION FUNCTION WITHIN POSTPARTUM PERIOD; GENITAL DISORDERS AS FAVORING FACTORS OF ANESTRUS SYNDROME IN CATTLE	27
1.1. Uterine involution and resumption of ovarian activity	27
1.1.1. Uterine involution	27
1.1.2. Ovarian activity resumption in postpartum period, in dairy cattle	30
1.1.3. Reproduction function endocrine control during postpartum period, in dairy cattle	32
CHAPTER II. ANESTRUS SYNDROME IN CATTLE	34
2.1. Anestrus syndrome favoring factors.....	34
2.1.1. Acute and chronic uterine inflammations.....	34
2.1.2. Nutrition and body condition.....	41
2.1.3. Calf presence (Suckling)	43
2.1.4. Stress factors	43
2.1.5. Milk production.....	44
2.1.6. Breed, genotype and parity	45
2.1.7. Other direct and indirect causes of anestrus syndrome occurrence in dairy cattle.....	46
2.2. Definition, classification, therapy and anestrus syndrome prevention in dairy cattle	47
2.2.1. Physiological anestrus	47
2.2.2. Pathological anestrus.....	49
2.2.3. Diagnosis, therapy and anestrus syndrome prevention in dairy cattle	52
CHAPTER III. PHD THESIS AIM AND OBJECTIVES	57
CHAPTER IV. RESEARCH REGARDING PREVALENCE OF OVARIAN DISEASES AND HORMONAL TREATMENT INFLUENCE ON REPRODUCTIVE PERIOD IN DAIRY CATTLE.....	59

4.1. Material and methods	59
4.1.1. Study regarding prevalence of ovarian diseases in dairy cattle	59
4.1.2. Study regarding hormonal treatment influence on reproduction period in dairy cattle	60
4.2. Results and discussions	60
4.2.1. Results and discussions regarding prevalence of ovarian diseases in dairy cattle	60
4.2.2. Results and discussions regarding hormonal treatment influence on reproduction period in dairy cattle	64
4.3. Partial conclusions	68
CHAPTER V. RESEARCH REGARDING UTERINE DISEASES AS INFERTILITY FACTORS IN DAIRY CATTLE	69
5.1. Material and methods	69
5.1.1. Observations regarding prevalence of genital disorders and diagnosis establishing by complementary methods in dairy cattle	69
5.1.2. Isolation, identification and antibiotic sensitivity determining of germs which occur in clinical endometritis	70
5.1.3. Phenotypic and molecular analyse of enteriobacteriaceae strains associated with high betalactams antibiotics resistance	73
5.2. Results and discussions	76
5.2.1. Results and discussions regarding prevalence of genital disorders and diagnosis establishing by complementary methods in dairy cattle	76
5.2.2. Results and discussions regarding isolation, identification and antibiotic sensitivity determining of germs which occur in clinical endometritis	78
5.2.3. Results and discussions regarding phenotypic and molecular analyse of enteriobacteriaceae strains associated with high betalactams antibiotics resistance	82
5.3. Partial conclusions.....	83
CHAPTER VI. RESEARCH REGARDING THE MAIN DISORDERS CAUSING ANESTRUS SYNDROME IN DAIRY CATTLE	84
6.1. Material and methods	84
6.2. Results and discussions	86
6.3 Partial conclusions.....	101
CHAPTER VII. RESEARCH REGARDING ULTRASONOGRAPHIC DIAGNOSIS AND TREATMENT OF ANESTRUS SYNDROME IN DAIRY CATTLE	102
7.1. Material and methods	102

7.1.1. Observations regarding ultrasonographic diagnosis of anestrus syndrome in dairy cattle.....	102
7.1.2. Observations regarding hormonal treatment response in dairy cattle with anestrus syndrome	103
7.2. Results and discussions	104
7.2.1. Observations regarding ultrasonographic diagnosis of anestrus syndrome in dairy cattle.....	104
7.2.2 Observations regarding hormonal treatment response in dairy cattle with anestrus syndrome	109
7.3 Partial conclusions.....	113
CHAPTER VIII. RESEARCHES ON ECONOMIC IMPLICATIONS AND IMPLEMENTATION OF A MODERN MEASURE TO PREVENT ANESTRUS SYNDROME IN DAIRY CATTLE.....	114
8.1. Material and methods	114
8.2. Results and discussions	115
8.3 Partial conclusions.....	134
CHAPTER IX. FINAL CONCLUSIONS, RECOMENDATION, STUDY LIMITS AND RESEARCH PERSPECTIVES.....	140
REFERENCES	144
ANNEX 1. ABBREVIATION LIST	Error! Bookmark not defined.
ANNEX 2. LIST OF TABLES.....	165
ANNEX 3. LIST OF FIGURES	168
ANNEX 4. PUBLISHED SCIENTIFIC PAPERS.....	170

INTRODUCERE

De sute de ani, creșterea bovinelor reprezintă una dintre principalele ramuri ce stau la baza agriculturii la nivel mondial, atât datorită producției de lapte, cât și a celei de carne sau de piele.

La nivel global, aproximativ 95% din cantitatea de lapte consumată de populație este asigurată în principal de vacile pentru lapte, iar specializarea acestora în scopul obținerii unor exemplare ameliorate care să ofere un maxim de eficiență productivă și reproductivă, atrage după sine dezechilibre organice și în special neuroendocrine.

Neasigurarea de către fermieri a unor factori corespunzători din punct de vedere zooigienic, alimentar și de microclimat, are ca efecte secundare apariția de diverse patologii reproductive, ce variază de la mici tulburări, până la afecțiuni utero-ovariene, care sunt considerate ca fiind mai importanți factori predispozanți și determinanți în instalarea sindromului de anestru la vacile specializate în producția de lapte.

Pe lângă factorii menționați anterior, rasa, vârsta, sezonul de parturiție, parturițiile distocice și afecțiunile din perioada postpartum, concură la instalarea acestui sindrom polifactorial.

În termeni largi, sindromul de anestru la vacă este caracterizat prin lipsa de manifestare a semnelor estrale, este asociat cu concentrații serice scăzute de progesteron în sânge, dar și cu modificări evidente ale tractului reproducător, așa cum sunt hipotrofia ovariană/corpus luteal persistent sau chisturile luteale.

Deși a fost și este un subiect intens studiat și dezbătut, atât la nivel național, cât și la nivel internațional, sindromul de anestru la vacă încă reprezintă o temă de actualitate și o problemă cu care medicii veterinari din teren și fermierii se confruntă.

În studiul de față, ne propunem o abordare modernă a acestei teme, cu scopul de a furniza informații actualizate ce fac referire la sindromul de anestru. Studiul se va referi atât la vacile de lapte din regiunea de Nord-Est a României, cât și la cele din zona de Est a Belgiei și va încerca oferirea de soluții noi și moderne, cu scopul de a optimiza procesele reproductive din fermele de vaci și astfel de a preveni pierderile economice cauzate de apariția acestui sindrom polifactorial.

La sfârșit de stagiul doctoral, țin să adresez mulțumiri conducerii Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară "Ion Ionescu de la Brad" Iași, care mi-a asigurat cadrul organizatoric fără de care nu aș fi putut să îmi duc la bun sfârșit activitatea științifică.

Sincere mulțumiri și recunoștință conducătorului de doctorat, domnul Prof. Univ. dr. Dan Drugociu, pentru îndrumarea științifică, suportul și sfaturile părintești pe care mi le-a acordat pe perioada celor patru ani de stagiul doctoral.

Mulțumiri deosebite domnului Conf. dr. Petru Roșca, care tot timpul a avut disponibilitatea de a mă asculta și de la care am primit cele mai bune sfaturi, fără de care nu aș fi reușit să imi duc la bun sfârșit lucrarea de față.

De asemenea, țin să adresez aleele mulțumiri tuturor membrilor comisiei de îndrumare, care au acceptat să mă coordoneze pe toată perioada stagiului doctoral.

Cu deosebită stimă mulțumesc membrilor care au avut amabilitatea să facă parte din comisia de doctorat și au acceptat să-mi analizeze teza.

Mulțumesc din suflet prietenelor mele Andreea, Daniela, Irina, Iulia și Oana, care mi-au fost alături pe perioada celor patru ani de doctorat și nu numai, atât la bine cât și la greu și alături de care am petrecut cele mai frumoase clipe. Colegilor de birou Ioana, Diana și Iulian, țin să le mulțumesc, pentru momente frumoase petrecute împreună și pentru suportul moral de care am avut parte în perioada acestor patru ani.

Sincere mulțumiri aș vrea să adresez și colectivului de Microbiologie din cadrul Facultății de Medicină Veterinară Iași, alături de care am petrecut momente de neuitat și care a fost o a doua familie pentru mine pe perioada stagiului de doctorat.

De asemenea, țin să mulțumesc domnului Prof. Univ. dr. Gheorge Savuța pentru că a avut încredere în mine și mi-a oferit șansa de a fi membră în proiectul "OH, MA CHEVRE!", domnului Șef de Lucrări Mihai Musteață, domnului Prof. Univ. dr. Mihai Mareș, colectivului de la Stațiunea de Cercetare - Dezvoltare pentru Creșterea Bovinelor Dancu, Iași. Cu toți acești oameni am avut colaborări frumoase pe perioada doctoratului și le sunt profund recunoscătoare.

Mulțumesc iubitului meu Lucian, care timp de patru ani a fost alături de mine necondiționat, m-a susținut, m-a motivat și m-a ajutat să trec peste momentele cele mai grele.

Nu în ultimul rând doresc să mulțumesc familiei minunate cu care m-a binecuvântat Dumnezeu, oameni cărora nu îmi ajung cuvintele să le mulțumesc pentru tot sprijinul și toată iubirea cu care m-au înconjurat. Părinților mei le datorez această reușită, datorită lor sunt omul de astăzi și sper să îi fac să fie mândri că sunt copilul lor.

INTRODUCTION

For hundreds of years, raising cattle represents one of the main branches lying at the base of worldwide agriculture, both due to dairy production and meat or leather production.

Globally, approximately 95% of the quantity of dairies consumed by the population is mainly ensured by dairy cows, and their specialisation for the purpose of obtaining improved species, which would offer maximum productive and reproductive efficiency, brings on organic and particularly neuroendocrine imbalances.

Farmers not ensuring appropriate factors from a zoohygienic, food and microclimate point of view has the side effects of occurrence of various reproductive pathologies, which vary from small disorders to uterine and ovarian disorders, which are considered the most important predisposing and determinant factors in the onset of the anestrus syndrome in cows specialised in dairy production.

Besides the previously-mentioned factors, breed, age, parturition season, dystocic parturitions and the conditions from the postpartum period compete for the onset of this multifactorial syndrome.

In broad terms, the anestrus syndrome in cows is characterised by the lack of manifestation of oestrous signs, it is associated with low serum concentrations of blood progesterone, but also with obvious changes of the reproductive tract, such as ovarian hypotrophy/persistent corpus luteum or luteal cysts.

Although it has been and it still is an intensively studied and debated subject, both nationally and internationally, the anestrus syndrome in cows continues to represent a present-day subject and a problem that the field veterinarians and farmers face.

This study aims at a modern approach of this subject, for the purpose of providing updated information that refers to the anestrus syndrome. The study will refer both to dairy cows from the North-East region of Romania, and to those from the East area of Belgium, and will try to provide new and modern solutions, for the purpose of optimising the reproductive processes from the cow farms and thus, to prevent economic losses caused by the occurrence of this multifactorial syndrome.

At the end of the doctoral stage, I would like to thank the board of the "Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Iași, which provided me with the organisational framework without which I couldn't have accomplished my scientific activity.

I would like to sincerely thank and express my gratitude to my doctoral thesis advisor, Mr Univ. Prof. Dan Drugociu PhD, for his scientific guidance, support and parental advice that he gave me throughout the four years of doctoral stage.

Special thanks to Mr Senior Lecturer Petru Roșca PhD, who always had the availability to listen to me, and from whom I have received the best advice, without which I wouldn't have managed to accomplish this paper.

I would also like to thank all the members of the guidance committee, who have accepted to coordinate me throughout my doctoral stage period.

I am very thankful to the members who have had the kindness to be part of the doctoral committee, and who have accepted to analyse my doctoral thesis.

I would like to thank from the bottom of my heart to my friends, Andreea, Daniela, Irina, Iulia and Oana, who were there for me during the four years of doctoral stage and more, both in good and bad times, and with whom I have spent the most beautiful moments. I want to thank my colleagues, Ioana, Diana and Iulian, for the beautiful time spent together and for the moral support that I received during these four years.

I am also thankful to the Microbiology team from the Faculty of Veterinary Medicine Iași, with whom I spent unforgettable moments, and who was like a second family to me during my doctoral stage.

I would also like to express my gratitude to Mr Univ. Prof. Gheorge Savuța PhD for trusting me and giving me the opportunity to be a member of the project "OH, MA CHEVRE!", to Mr Lecturer Mihai Musteață, and the team from the Research - Development Station for Raising Cattle Dancu, Iași. I have had beautiful collaborations with all of these persons during my doctoral stage, and I am deeply grateful to them.

Thank you to my boyfriend Lucian, who has been with me unconditionally for four years, the man from whom I always had something to learn, who supported me, motivated me and who loves me.

And last, but not least, I want to thank my wonderful family that God blessed me with, mom, dad, Andreea, Alexandra, Victor and grandpa, for whom I don't have enough words to thank them for all of their support and all the love that they have given to me. I owe this achievement to my parents; I am the person that I am today thanks to them and I hope that I will make them proud of being their child.

REZUMAT

Teza de doctorat cu tema "Cercetări privind sindromul de anafrodizie la vacă", este structurată conform reglementărilor privind elaborarea unei teze de doctorat în două părți principale: prima parte cuprinde date cu privire la stadiul actual al cunoașterii, iar în partea a doua a tezei sunt prezentate cercetările proprii pentru tema stabilită.

Prima parte a tezei însumează 29 de pagini și ilustrează pe parcursul a două capitole date bibliografice ce fac referire la reluarea funcției de reproducere în perioada postpartum, care sunt afecțiunile ce favorizează apariția sindromului de anestru la vacile de lapte, precum și informații cu privire la clasificarea, diagnosticul, terapia și prevenirea sindromului de anestru la vacile de lapte.

Cea de-a doua parte a tezei are un număr total de 142 de pagini și este structurată în 7 capitole. Acestea cuprind scopul și obiectivele tezei, rezultatele studiilor realizate cu scopul de a determina: prevalența ovaripatiilor, care sunt principalele afecțiuni ce generează sindromul de anestru la vacă, date cu privire la diagnosticul ecografic și terapia anestrului, precum și oferirea unei metode profilactice moderne de prevenire a sindromului de anestru la vacă.

Fiecare capitol este structurat într-o parte de material și metodă unde sunt prezentate cadrul organizatoric/populația luată în studiu sau protocolul de tratament și o parte în care sunt prezentate concluziile parțiale ce revin fiecărui capitol în parte. Teza însumează un număr total de 39 figuri, 18 tabele și 240 titluri bibliografice.

Capitolul III prezintă "**Scopul și obiectivele tezei**" și s-a urmărit actualizarea informațiilor cu privire la factorii favorizanți și determinanți în apariția sindromului de anestru la vacile de lapte. De asemenea s-a încercat găsirea unor metode moderne de optimizare al procesului reproductiv în fermele de vaci, dar și realizarea unei aplicații de smartphone în scopul monitorizării și managerierii activității reproductive în fermele de bovine.

Principalele obiective ale acestei teze au fost:

- stabilirea prevalenței ovaripatiilor la vacile de lapte și influența tratamentelor hormonale asupra perioadei de reproducere;
- izolarea și identificarea cu ajutorul examenelor microbiologice a tulpinilor bacteriene implicate în afecțiunile uterine ce reprezintă factori de infecunditate la vacile de lapte;
- stabilirea sensibilității la antibiotice a tulpinilor bacteriene implicate în afecțiunile uterine utilizând metoda antibiografei difuzimetrice;

- caracterizarea substratului molecular al fenotipului ESBL (enzime betalactamază cu spectru extins) identificat la tulpinile de *Escherichia coli* izolate din probele recoltate de la vacile cu endometrite clinice;
- stabilirea cu ajutorul metodelor complementare (examinare ecografică) a diagnosticelor afecțiunilor utero-ovariene la vacile de lapte;
- stabilirea eficacității unor tratamente aplicate la vacile de lapte diagnosticate cu anestru postpartum;
- identificarea de corelații între afecțiunile din perioada postpartum și influența acestor patologii asupra performanței reproductive la vacile de lapte;
- realizarea unei analize din punct de vedere economic cu privire la pierderile produse de vacile diagnosticate cu sindromul de anestru;
- realizarea unei aplicații de smartphone de monitorizare și manageriere a activității reproductive în fermele de vaci, cu scopul de a eficientiza procesul reproductiv.

Capitolul IV cu titlul **”Cercetări privind determinarea prevalenței ovaripatiilor și influența tratamentelor hormonale asupra perioadei de reproducere, la vacile de lapte”** cuprinde două subcapitole.

În primul subcapitol a fost realizat un studiu retrospectiv privind determinarea prevalenței ovaripatiilor la vacile de lapte, pe un număr total de 834 de vaci din rasa Bălțată cu Negru Românească. Datele au provenit de la o fermă specializată în producția de lapte din Nord-Estul României și au cuprins o perioadă de patru ani consecutivi (2010-2013).

Analiza datelor a indicat faptul că din totalul vacilor monitorizate, 38,49% au prezentat afecțiuni ovariene care au evoluat cu anestru patologic. Din totalul animalelor luate în studiu, 18,70% au fost diagnosticate cu corp luteal persistent, patologie urmată de hipotrofia ovariană (11,03%) și boala chistică ovariană, într-o proporție de 8,75%.

În ceea ce privește repartitia afecțiunilor ovariene înregistrate pe perioada celor 4 ani luați în studiu, din totalul de 321 de cazuri de ovaripatii înregistrate, cea mai crescută valoare a prevalenței afecțiunilor ovariene, a fost înregistrată în anul 2010 (30,22%), iar cea mai scăzută a fost înregistrată în anul 2012, cu o valoare de 20,56%.

În funcție de sezonul de fătare, s-a observat că în decursul celor patru ani, persistența corpului luteal a înregistrat două niveluri maxime, în anotimpul de iarnă și în cel de primăvară, cea mai scăzută prevalență a acestei ovaripatii fiind înregistrată la vacile care au fătat în timpul sezonului de vară. În funcție de numărul lactației, cea mai crescută prevalență s-a înregistrat la vacile diagnosticate cu corp luteal persistent, în cursul primei lactații.

Subcapitolul următor se referă la cel de-al doilea studiu retrospectiv privind efectul tratamentelor hormonale asupra perioadei de reproducere la vacile de lapte. Astfel, s-a evidențiat că existența patologiilor ovariene prelungește perioada de reproducere, ducând la un număr mai mare de inseminări artificiale pentru obținerea unei gestații, la prelungirea service periodului, a calving intervalului și implicit la creșterea pierderilor economice în cadrul fermei.

Capitolul V cuprinde **"Cercetări privind afecțiunile uterine ca factori de infecunditate la vacile de lapte"**, a fost realizat pe un număr de 285 de vaci și a fost structurat tot în două subcapitole.

Au fost recoltate un număr total de 35 de probe, provenite de la vaci cu endometrite clinice, probe prelucrate la laboratorul de Microbiologie, din cadrul Facultății de Medicină Veterinară Iași. Din totalul tulpinilor bacteriene izolate de la vacile cu semne clinice de endometrită, 64% au fost reprezentate de bacterii Gram negative, iar 36% dintre tulpini au fost reprezentate de bacteriile Gram pozitive.

Pentru tulpinile Gram negative, s-a observat că toate au fost rezistente la Amoxicilină potențată cu Acid Clavulanic. De asemenea, se observă că un procent destul de mare din tulpinile Gram negative izolate au fost rezistente la Penicilină, Ampicilină, Oxacilină și Vancomicină. În mod similar tulpinilor Gram negative, s-a observat că cele Gram pozitive izolate, au prezentat o rezistență crescută la antibioticele din clasa Beta-lactamine, subclasa Peniciline: Amoxicilină potențată cu Acid Clavulanic, Ampicilină și Penicilină, dar și la antibiotice din clasa Macrolide (Eritromicina) sau la antibiotice din clasa Polipeptidelor ciclice (Colistin).

În cel de-al doilea subcapitol, s-a urmărit analiza fenotipică și moleculară a unor tulpini de enterobacterii asociate cu rezistența crescută la antibioticele betalactamice. Tulpinile izolate care au generat colonii caracteristice pe mediul Brilliance ESB, au fost considerate prezumtiv producătoare de ESB și testate apoi prin metoda discurilor combinate, pentru a confirma fenotipic prezența acestor enzime.

Caracterizarea substratului molecular al fenotipului ESB s-a realizat prin tehnica PCR și a urmărit identificarea principalelor gene ce codifică enzimele ESB: CTX-M, SHV și OXA.

În urma investigațiilor realizate în vederea identificării principalelor gene ce codifică enzimele ESB, rezultatele noastre au fost negative pentru toate izolatele analizate. Rezultatul negativ obținut de noi poate fi explicat fie prin prezența la nivel molecular a altor gene ce codifică enzimele ESB, fie prin prezența unui alt mecanism de rezistență ce poate determina acest tip de rezistență, cum ar fi mecanismul prin pompele de eflux.

Capitolul VI denumit **"Cercetări privind principalele afecțiuni ce generează sindromul de la anestru la vacile de lapte"** a avut ca scop identificarea corelațiilor dintre anumite afecțiuni postpartum (distocii, retenția anexelor fetale, febra vituleră, metrita, endometrita, ovaripatii) și alți parametri reproductivi, cu scopul de a stabili eventualii factori de risc pentru slaba performanță reproductivă a vacilor și consecințele negative pe care aceste patologii le au.

Datele utilizate în cadrul acestui studiu exploratoriu au fost colectate de la două ferme de vaci de lapte, din regiunea de Est a Belgiei, pe o perioadă de doi ani consecutivi (2014-2015), din rasele Holstein.

În urma analizei statistice, s-a observat că parturițiile distocice reprezintă factori predispozanți pentru apariția afecțiunilor postpartum (retenția placentară, febra

vituleră, metrita, endometrita). De asemenea, s-a evidențiat că retenția placentară secundară parturițiilor distocice, a reprezentat un factor predispozant pentru apariția

endometritelor și a afecțiunilor metabolice (febra vituleră).

Prezența distociilor și retențiilor placentare a contribuit la modificarea indicilor reproductivi (perioada de reproducere, service period, calving interval, creșterea perioadei de așteptare - fătare - prima inseminare artificială), determinând astfel întârzieri în instalarea de noi gestații.

Dintre afecțiunile postpartum urmărite, cele care au avut semnificație statistică pentru studiul nostru, au fost retenția anexelor fetale, metrita și endometrita, influențând în sens negativ reluarea ciclicității ovariene în decursul celor 60 de zile postpartum.

Deși sezonul de fătare este menționat de alți autori ca având o mare importanță în explicarea afecțiunilor reproductivă la vaci și în mod particular al sindromului de anestru postpartum, în urma analizei statistice realizate, pentru studiu de față nu s-a obținut nicio corelație semnificativă din punct de vedere statistic.

Capitolul VII **"Cercetări privind diagnosticul ecografic și tratamentul sindromului de anestru, la vacile de lapte"** descrie în primul subcapitol observații privind diagnosticul ecografic al sindromului de anestru la vacile de lapte, studiu efectuat într-o fermă de bovine din regiunea de Est a României, pe un număr total de 450 de capete, în perioada februarie - septembrie 2016.

Un număr total de 120 de vaci din rasele Holstein și Bălțată cu Negru Românească, au fost selectate pe perioada acestui studiu, în funcție de protocolul experimental pe care l-am abordat.

Dintre toate patologiile care au evoluat în perioada februarie - septembrie, endometrita și persistența corpului luteal au fost cel mai frecvent diagnosticate.

Cel de-al doilea subcapitol a cuprins observații privind evaluarea răspunsului la tratamentele hormonale aplicate la vacile diagnosticate cu anestru postpartum, și a fost realizat pe un număr total de 120 de vaci (6 loturi experimentale).

Pentru vacile din lotul **L2** (vacii cu estru liniștit), s-a observat că o monitorizare atentă a animalelor, duce la o bună detecție a semnelor estrale. Astfel, din cele 20 de vaci urmărite, 60% au prezentat semne estrale și au fost inseminate artificial. Dintre acestea, 35% au fost diagnosticate ca fiind gestante fără a fi nevoie de administrarea adițională a tratamentelor hormonale.

Pentru lotul **L3** semnele estrale au apărut într-un număr mediu de 3,26 zile, iar dintre acestea, doar 45% au fost diagnosticate ca fiind gestante. La lotul **L4**, 90% dintre cele 20 de vaci au fost diagnosticate gestante în urma tratamentului efectuat, iar indicii de gestație și rata de concepție au avut valori de 90% respectiv 55%.

Spre deosebire de lotul **L4** (vacii diagnosticate cu corp luteal persistent), la care răspunsul la tratament a apărut la toate vacile tratate (20), pentru lotul **L3** (vacii

diagnosticate cu corp luteal persistent), răspunsul la tratamentul administrat a fost înregistrat la doar 75% dintre vacile tratate.

La vacile din lotul **L5** diagnosticate cu chisturi luteale și tratate cu PGF2 α + I.A. la observarea semnelor estrale, din cele 20 de vaci tratate, 85% au răspuns pozitiv la tratament, iar gestante au fost diagnosticate doar 70% dintre vaci. În cazul studiului nostru, pentru lotul de vaci diagnosticate cu chisturi luteale, semnele estrale au apărut în medie în 4,11 zile, iar indicele de gestație a avut o valoare medie de 82,4%.

Pentru vacile din lotul **L6** diagnosticate cu hipotrofie ovariană, reechilibrarea dietei a dat rezultate doar pentru 30% din cele 20 incluse în acest lot. La aceste vaci semnele estrale au apărut în medie în 30 de zile de la începerea tratamentului, indicele de gestație a avut o valoare de 66,7%, iar rata de concepție o valoare de 33,3%.

Capitolul VIII s-a referit la **"Cercetări privind implicațiile economice și implementarea unei măsuri moderne de prevenire a sindromului de anestru, la vacile de lapte"**

Studiului economic realizat în acest capitol, a evidențiat că în urma cheltuielilor realizate cu furajarea, întreținerea și îngrijirea vacilor infecunde, costurile zilnice pentru fiecare vacă au fost de 8,44€. Cheltuielile neproductive pe un an de studiu realizate cu furajarea, întreținerea și îngrijirea vacilor infecunde înregistrate la nivelul întregii ferme, au fost de 30.443€. Pierderile totale înregistrate la nivelul întregii ferme pentru 3607 zile de infecunditate au fost de 38.012€, iar pentru fiecare vacă s-au cheltuit zilnic câte 10,53€.

Pentru tratarea infecundității, cheltuielile totale înregistrate într-un an de studiu au fost 589,9€, iar pentru fiecare sumă de bani cheltuită în scopul tratării infecundității, la nivel de fermă s-a înregistrat un coeficient de eficiență de 85,64€.

În cea de-a doua parte a capitolului, este prezentată o aplicație de smartphone **"Cattle365"**, ce constituie o metodă modernă de manageriere din punct de vedere reproductiv al unui grup de animale, constituind astfel, un instrument util pentru medicii veterinari ce doresc o supraveghere mai fidelă a vacilor dintr-un efectiv.

Utilizarea acestei aplicații, permite gestionarea întregii activități reproductive a vacilor din fermă, din momentul introducerii animalului în efectiv și până la reformarea acestuia. De asemenea, aceasta oferă posibilitatea de a avea acces la toate informațiile stocate în baza de date a aplicației, oferind în același timp o imagine de ansamblu și în timp real a întregului grup de animale.

Utilizarea aplicației **"Cattle365"** oferă posibilitatea identificării mai precise a vacilor ce urmează să prezinte semne estrale în perioada imediat următoare (prin intermediul notificărilor recepționate pe telefonul mobil, cu trei zile înainte de apariția fiziologică a semnelor estrale), prevenind astfel diagnosticarea fals pozitivă cu anestru a vacilor cu estru liniștit.

Capitolul IX **"Concluzii finale, limitele studiului și perspective de cercetare"**, cuprinde aspectele principale ale studiului realizat pe tema stabilită, ce sunt redată în 35 de concluzii principale și recomandări.

ABSTRACT

The doctoral thesis entitled “Research on Anestrus Syndrome in Dairy Cattle” is structured according to the regulations regarding the drafting of a doctoral thesis, in two main parts: the first part includes data in regard to the current stage of knowledge, and our own research for the established subject is presented in the second part.

The first part of the thesis consists of 29 pages, and depicts in two chapters the reference data that refers to resuming the reproduction function during the postpartum period, what the conditions that favour the occurrence of the anestrus syndrome in dairy cows are, as well as to information in regard to the classification, diagnosis, therapy and prevention of anestrus syndrome in dairy cows.

The second part of the thesis has a total number of 142 pages, and it is structured in 7 chapters. They include the purpose and objectives of the thesis, the results of the studies carried out for the purpose of determining: the prevalence of ovarioopathies, what the main conditions that generate the anestrus syndrome in cows are, data in regard to the echographic diagnosis and therapy of anestrus, as well as offering a modern prophylactic method to prevent the anestrus syndrome in cows.

Each chapter is structured in a part of material and method, where the organisational framework/population taken into study or the treatment protocol are presented, and a part where partial conclusions pertaining to each chapter are provided. The thesis includes a total number of 39 figures, 18 tables and 240 references.

Chapter III presents the “**Purpose and objectives of the thesis**” and aims at updating the information in regard to the favouring and determining factors in the occurrence of the anestrus syndrome in dairy cows. We also tried to find modern methods to optimise the reproductive process in cow farms, and to create a smartphone application for the purpose of monitoring and managing the reproductive activity in cattle farms.

The main objectives of this thesis were:

- establishing the prevalence of ovarioopathies in dairy cows and the influence of hormonal treatments on the reproduction period;
- isolating and identifying the bacterial strains involved in uterine conditions, which represent infertility factors in dairy cows, with the help of microbiological tests;
- establishing the sensitivity of the bacterial strains involved in uterine conditions to antibiotics using the diffusimetric antibiogram;

- characterising the molecular substrate of the ESBL (extended spectrum beta lactamase) phenotype identified in *Escherichia coli* strains isolated from samples collected from cows with clinical endometritis;
- establishing the diagnoses of uteroovarian conditions in dairy cows with the help of complementary methods (echography examination);
- establishing the efficacy of some treatments applied in dairy cows diagnosed with postpartum anestrus;
- identifying correlations between the conditions from the postpartum period and the influence of these pathologies on the reproductive performance in dairy cows;
- conducting an analysis from an economic point of view in regard to the losses caused by cows diagnosed with anestrus syndrome;
- creating a smartphone application to monitor and manage the reproductive activity in cow farms, for the purpose of making the reproductive process more efficient.

Chapter IV entitled **“Research regarding the determination of prevalence of ovarioopathies, and the influence of hormonal treatments on the reproductive period in dairy cows”** includes two subchapters.

In the first subchapter, a retrospective study has been carried out in regard to determining the prevalence of ovarioopathies in dairy cows, on a total number of 834 cows from the Romanian Black Pied breed. The data came from a farm specialised in dairy production from the North-East of Romania, and included a period of four consecutive years (2010-2013).

The analysis of the data indicated that from the total of monitored cows, 38.49% had ovarian conditions which evolved with pathological anestrus. From the total of animals taken into study, 18.70% were diagnosed with persistent corpus luteum, pathology followed by ovarian hypotrophy (11.03%) and ovarian cystic disease, 8.75%.

In regard to reoccurrence of ovarian conditions registered during the 4-year period taken into study, from the total of 321 cases of registered ovarioopathies, the highest value of prevalence of ovarian conditions was registered in 2010 (30.22%), and the lowest was registered in 2012, with a value of 20.56%.

Depending on the calving season, it has been noticed that during the four years, the persistence of corpus luteum registered two maximum levels, in winter and in spring, the lowest prevalence of this ovarioopathy being registered in cows which calved in summer. Depending on the number of lactation, the highest prevalence was registered in cows diagnosed with persistent corpus luteum, during the first lactation.

The next subchapter refers to the second retrospective study in regard to the effect of hormonal treatments on the reproduction period in dairy cows. Thus, it has been noticed that the existence of ovarian pathologies extends the reproduction period, resulting in a higher number of artificial inseminations to obtain a gestation, in extending the service period, the calving interval, and implicitly in increasing the economic losses within the farm.

Chapter V includes **“Research regarding uterine conditions as infertility factors in dairy cows”**, it was also structured in two subchapters, and the research was carried out on a number of 285 cows.

A total number of 35 samples were collected, coming from cows with clinical endometritis, and the samples were processed at the Microbiology laboratory from the Faculty of Veterinary Medicine Iași. From the total of bacterial strains isolated from cows with clinical signs of endometritis, 64% were Gram-negative bacteria, and 36% of the strains were Gram-positive bacteria.

For Gram-negative strains, it has been noticed that all were resistant to Clavulanic Acid-potentiated Amoxicillin. It has also been noticed that a rather high percentage of isolated Gram-negative strains were resistant to Penicillin, Ampicillin, Oxacillin and Vancomycin. Similarly to Gram-negative strains, it has been observed that isolated Gram-positive strains had a high resistance to Beta-lactam antibiotics, Penicillin subclass: Clavulanic Acid-potentiated Amoxicillin, Ampicillin and Penicillin, but also to Macrolide antibiotics (Erythromycin) or to Cyclic Polypeptide antibiotics (Colistin).

The second subchapter aimed at the phenotypic and molecular analysis of enterobacteriaceae strains associated with high resistance to beta-lactam antibiotics. The isolated strains that generated characteristic colonies on the Brilliance ESBL medium were presumptively considered to produce ESBL and then tested using the combination disk test to phenotypically confirm the presence of these enzymes.

The characterisation of the molecular substrate of the ESBL phenotype was carried out through the PCR technique, and aimed at identifying the main genes that codify the ESBL enzymes: CTX-M, SHV and OXA.

Following the investigations carried out in order to identify the main genes that codify the ESBL enzymes, our results were negative for all analysed isolated strains. The negative result that we obtained can be explained either by the presence at a molecular level of other genes that codify the ESBL enzymes, or by the presence of another resistance mechanism that can determine this type of resistance, such as the efflux pump mechanism.

Chapter VI entitled **“Research regarding the main conditions that generate the anestrus syndrome in dairy cows”** aimed at identifying the correlations between certain postpartum conditions (dystocias, retained foetal adnexa, milk fever, metritis, endometritis, ovarioopathies) and other reproductive parameters, for the purpose of establishing the possible risk factors for the poor reproductive performance of cows, and the negative consequences that these pathologies have.

The data used in this exploratory study was collected from two farms of dairy cows from the East region of Belgium, for a period of two consecutive years (2014-2015), from the Holstein breeds.

Following the statistical analysis, it has been noticed that dystocic parturitions represent predisposing factors for the occurrence of postpartum conditions (retained

placenta, milk fever, metritis, endometritis). It has also been observed that retained placenta secondary to dystocic parturitions has represented a predisposing factor for the occurrence of endometritis and metabolic conditions (milk fever).

The presence of dystocias and retained placenta has contributed to the change of reproductive indices (reproduction period, service period, calving interval, increase of the waiting period - calving - first artificial insemination), thus causing delays in the onset of new gestations.

Of the followed postpartum conditions, those that were statistically significant for our study were retained foetal adnexa, metritis and endometritis, negatively influencing the resuming of ovarian cycle within the 60 postpartum days.

Although the calving season is mentioned by other authors as having a great importance in explaining the reproductive conditions in cows and particularly the postpartum anestrus syndrome, following the statistical analysis that was carried out, no statistically significant correlation has been obtained for this study.

Chapter VII, “**Research regarding the echographic diagnosis and treatment of anestrus syndrome in dairy cows**”, describes in the first subchapter observations regarding the echographic diagnosis of anestrus syndrome in dairy cows, a study which was carried out in a cattle farm from the East region of Romania, on a total number of 450 cows, in the period February - September 2016.

A total number of 120 cows from the Holstein and Romanian Black Pied breeds were selected for the period of this study, depending on the experimental design that we approached.

Of all the pathologies that evolved in the period February - September, endometritis and persistence of corpus luteum were the most commonly diagnosed.

The second subchapter included observations regarding the evaluation of the response to hormonal treatments applied to cows diagnosed with postpartum anestrus, and the research was carried out on a total number of 120 cows (6 experimental batches).

For the cows from batch **L2** (cows with calm oestrus), it has been noticed that close monitoring of animals leads to a better detection of oestrous signs. Thus, of the 20 cows that were followed, 60% had oestrous signs and were artificially inseminated. Of these, 35% were diagnosed as being with calf without being necessary to administer hormonal treatments in addition.

For batch **L3**, oestrous signs occurred within an average number of 3.26 days, and of these, only 45% were diagnosed as being with calf. In batch **L4**, 90% of the 20 cows were diagnosed as being with calf following the performed treatment, and the gestation index and the conception rate had values of 90% and 55%, respectively.

Unlike batch **L4** (cows diagnosed with persistent corpus luteum), in which response to treatment occurred in all treated cows (20), for batch **L3** (cows diagnosed with persistent corpus luteum), response to the administered treatment was registered only in 75% of the treated cows.

In the cows from batch **L5** diagnosed with luteal cysts and treated with PGF2 α + I.A. upon observation of oestrous signs, of the 20 treated cows, 85% responded positively to treatment, and only 70% of the cows were diagnosed as being with calf. In our study, for the batch of cows diagnosed with luteal cysts, oestrous signs occurred on average within 4.11 days, and the gestation index had an average value of 82.4%.

For the cows from batch **L6** diagnosed with ovarian hypertrophy, re-balancing the diet had results only for 30% of the 20 cows included in this batch. In these cows, oestrous signs occurred on average within 30 days after starting treatment, the gestation index was 66.7%, and the conception rate was 33.3%.

Chapter VIII referred to **“Research regarding the economic implications and implementation of a modern measure to prevent anestrus syndrome in dairy cows”**.

The economic study carried out in this chapter revealed that following expenses made with fodder provision, maintenance and caring for infertile cows, the daily costs for each cow were €8.44. Non-productive expenses per year of study made with fodder provision, maintenance and caring for infertile cows registered for the entire farm were €30,443. The total losses registered for the entire farm for 3607 days of infertility were €38,012, and for each cow €10.53 were spent every day.

To treat infertility, the total expenses registered in one year of study were €589.9, and for each amount of money spent for the purpose of treating infertility, an efficiency coefficient of €85.64 was registered at the farm level.

In the second part of the chapter, we presented a smartphone application, **“Cattle365”**, which represents a modern method to manage a group of animals from a reproductive point of view, thus being a useful instrument for veterinarians who want to supervise cows from a group more accurately.

The use of this application allows to manage the entire reproductive activity of cows from the farm, from the moment of introducing the animal in the group and until its reformation. It also offers the possibility to have access to all of the information stored in the database of the application, providing at the same time a perspective and real-time picture of the entire animal group.

Using the **“Cattle365”** application offers the possibility of a more precise identification of cows, which are about to have oestrous signs in the following immediate period (by notifications received on the mobile phone, three days prior to physiological occurrence of oestrous signs), thus warning false positive diagnosing with anestrus of cows with calm oestrus.

Chapter IX, **“Final conclusions, limits of the study and research perspectives”**, includes the main aspects of the study carried out on the established subject, which are presented in 35 main conclusions.

PARTEA I – STADIUL ACTUAL AL CUNOASTERII

PART I – CURENT KNOWLEDGE STAGE

CAPITOLUL I. RELUAREA FUNCȚIEI DE REPRODUCERE ÎN PERIOADA POSTPARTUM ȘI AFECȚIUNILE CARE FAVORIZEAZĂ APARIȚIA SINDROMULUI DE ANESTRU, LA VACILE DE LAPTE

CHAPTER I. RESUMPTION OF REPRODUCTION FUNCTION WITHIN POSTPARTUM PERIOD; GENITAL DISORDERS AS FAVORING FACTORS OF ANESTRUS SYNDROME IN CATTLE

La vaci, parturiția este urmată de o perioadă de inactivitate ovariană și liniște sexuală, înainte de reluarea ciclicității ovariene și este considerată un mecanism natural de reducere a șanselor de a concepe, înainte ca vițelul recent fătat să fie înțărcat (Peter ș.a., 2009).

Instalarea unei noi gestații în decursul a 85 de zile după fătare, implică o sincronizare perfectă între involuția uterină, hipotalamus, hipofiză și ovare (reluarea ciclicității ovariene), exprimarea estrului și conceperea unui nou produs de concepție, după inseminarea/ monta în timp util (Peter ș.a., 2009). Astfel, pentru o mai amplă imagine asupra evenimentelor din perioada postpartum, în cele ce urmează, vor fi prezentate date cu privire la involuția uterină și reluarea activității ovariene în perioada postpartum, la vacile de lapte.

1.1. Involuția uterină și reluarea activității ovariene

1.1.1. Involuția uterină

După producerea parturiției, tractul genital femel suferă o reducere evidentă în dimensiune, proces denumit involuție uterină. În general, pentru revenirea uterului la dimensiunea celui negestant, organismul are nevoie de o perioadă de 3 săptămâni, timpul necesar involuției fiziologice complete (regenerarea epiteliului endometrului), putând varia între 40 și 50 zile (Ptaszynska, 2009).

De-a lungul anilor, au existat numeroase dispute în ceea ce privește momentul în care se consideră completă involuția uterină. Astfel, Arthur ș.a. (2001), citează mai multe studii realizate atât la vacile de lapte, cât și la cele de carne, în care se afirmă că timpul necesar involuției uterine complete variază între 26 și 52 de zile pentru vacile de lapte, respectiv între 37,7 și 56 de zile, pentru vacile de carne.

Datorită contracțiilor cervicale din perioada imediat următoare parturiției, introducerea mâinii la 10-12 ore postpartum este aproape imposibilă, iar la 96 de ore postpartum este posibilă doar introducerea a două degete.

În mod similar uterului, și cervixul prezintă atrofie și contracții, datorită eliminării de secreții uterine, a reducerii colagenului și a mușchiului neted (Arthur ș.a., 2001).

În anul 1968, Gier și Marion au constatat faptul că media diametrului cervical anterior a fost de 15 cm la două zile postpartum, de 9 - 11 cm la 10 zile, la 7 - 8 cm la 30 de zile și de 5 - 6 cm la 60 zile postpartum (Arthur ș.a., 2001).

Reducerea în volum a tractului genital este logaritmică, cele mai mari modificări la nivelul acestuia, apărând în primele zile postpartum. În această perioadă contracțiile uterine continuă, deși se reduc în regularitate, frecvență, amplitudine și durată. De asemenea, miofibrilele suferă procese de atrofie, prin reducerea dimensiunii lor de la 700 la 400 μm în prima zi postpartum, la mai puțin de 200 μm în următoarele zile (Arthur ș.a., 2001).

Nivelurile endogene de metaboliți ai prostaglandinei $F2\alpha$ sunt crescute încă din primele 7 zile de după parturiție, până în ziua 23 postpartum, susținând astfel involuția uterină. Acest proces de involuție implică contracția fizică, necroza și descuamarea carunculelor, precum și regenerarea endometriului. După eliminarea alanto-corionului, are loc necroza vilozităților de la nivelul carunculelor uterine care se separă și se elimină la 12 zile după parturiție.

De asemenea, desprinderea placentei de la nivelul carunculelor contribuie semnificativ la reducerea rapidă în greutate a uterului, ajungând de la o greutate de 13 kilograme la momentul parturiției, la aproximativ 1 kilogram, 3 săptămâni mai târziu. (Ptaszynska, 2009). Deși tipul de placentă la vacă este de tip nedeciduat, în primele 7 - 10 zile postpartum este eliminată o anumită cantitate de lichid și detritusuri tisulare (lochiile) (Arthur ș.a., 2001).

Lochiile provin din resturile de fluide fetale, sângele provenit din vasele ombilicale rupte și resturile de membrane fetale, dar mai ales din suprafețele desprinse de pe suprafața carunculelor uterine.

Lochiile sunt de obicei de culoare galben-maronii, sau brun-roșcate, volumul lor variind foarte mult de la individ la individ. La vacile primipare, cantitatea eliminată după parturiție rareori depășește 500 ml, iar ocazional la unele femele aceste secreții lipsesc, datorită absorbției lor complete.

La vacile multipare cantitatea totală a lochiilor poate ajunge la 2000 ml, deși cel mai adesea ajunge la aproximativ 1000 ml. Cea mai mare cantitate de secreții lochiale apare în primele 2 - 3 zile postpartum, urmând ca în ziua a 8-a să fie mult mai redusă cantitativ, iar în decursul zilelor 14 - 18 postpartum, să dispară complet (Arthur ș.a., 2001).

Aspectul lochiilor variază în funcție de ziua postpartum, astfel încât, în ziua 9, lochiile au frecvent aspectul petelor de sânge, urmând ca spre finalul acestei perioade să devină deschise la culoare, cu aspect limfatic. Specific secrețiilor lochiale, este faptul că nu au miros neplăcut (Arthur ș.a., 2001).

După eliminarea alanto-corionului, carunculi au aproximativ 70 mm lungime, 35 mm lăţime şi o grosime de 25 mm. Criptele endometriale conţin frecvent resturi ale vilozităţilor coriale, care s-au detaşat de pe restul alanto-corionului, în momentul separării placentare.

În primele 48 de ore postpartum, apar modificări necrotice precoce în masa septală a carunculelor, vasele de sânge carunculare devenind rapid îngustate şi aproape ocluzate. La 5 zile de la producerea parturii, necroza a evoluat complet astfel încât stratum compactum este acoperit de un strat necrotic încărcat cu leucocite.

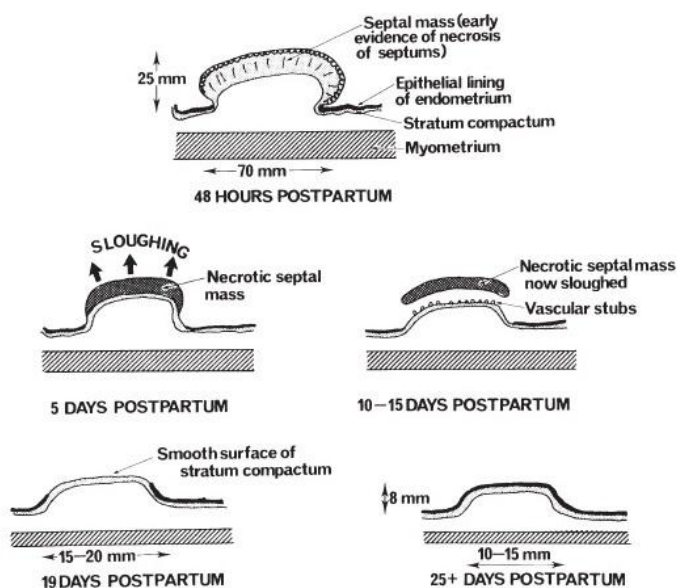


Fig. 1.1 Modificările carunculare la vacă, în perioada puerperiumului timpuriu (Gier şi Marion, 1968)

Fig. 1.1 Caruncular changes in cows during early puerperium (Gier and Marion, 1968)

În continuare, o parte din acest material necrotic începe să se desprindă, contribuind astfel la formarea lochiilor. Vasele mici de sânge, în special arteriolele, protuberează de pe suprafaţa carunculelor, din care se elimină sânge ce conferă lochiilor culoarea roşie (Arthur ş.a., 2001).

După primele 10 zile postpartum, cea mai mare parte a ţesutului necrotic caruncular s-a desprins şi a suferit anumite grade de lichefiere, urmând ca după ziua 15 postpartum, stratul caruncular să fie desprins complet, lăsând doar nişte protuberanţe vasculare pe suprafaţa stratum compactum. În cele din urmă, suprafaţa stratum compactum devine netedă în jurul zilei 19 postpartum, datorită dispariţiei vaselor de sânge.

Regenerarea epiteliului endometrului începe imediat după producerea parturii în acele zone care nu au fost grav afectate şi este completă în zonele intercarunculare în decurs de 8 zile.

Reepitelizarea carunculei, care este în mare parte derivat din creșterea centripetă a celulelor din glandele uterine din jur, este completă începând cu ziua 25 postpartum, deși stadiul în care se produce vindecarea este variabilă. În timp ce aceste schimbări au loc, carunculei devin din ce în ce mai mici, astfel încât după 40 – 60 zile postpartum, aceștia sunt mici protuberanțe de 4 - 8 mm diametru și o înălțime de 4 - 6 mm (fig.1.1) (Arthur ș.a., 2001).

1.1.2. Reluarea activității ovariene în perioada postpartum, la vacile de lapte

În apropierea parturii, se produce o scădere graduală a concentrațiilor de progesteron, în timp ce concentrațiile estrogenului continuă să crească, atingând un vârf maxim prin dublarea concentrației în decursul ultimelor 24 de ore înainte de fătare. Deoarece aproape toți estrogenii sunt de origine placentară, concentrațiile acestora scad brusc după expulzarea produsului de concepție, atingând astfel niveluri bazale la o zi după producerea parturii (Patel ș.a., 1999).

În absența progesteronului și a estradiolului în perioada postpartumului timpuriu, axa hipotalamo-hipofizară este eliberată de efectele supresive ale acestor steroizi, determinând astfel reluarea funcției normale a generatorului de impulsuri GnRH și astfel eliberarea acestuia, acționând asupra hipofizei pentru restabilirea cursului normal de eliberare a FSH-ului.

Valurile normale de FSH se reiau în decursul primelor 3 zile după fătare, declanșând apariția unui prim val folicular (Crowe ș.a., 1998).

În timp ce etapele timpurii ale dezvoltării foliculare sunt gonadotropin independente, în continuare, suportul FSH-ului este necesar pentru creșterea foliculară de la 4 la 9 mm, iar impulsurile LH-ului sunt indispensabile pentru continuarea creșterii foliculilor cu diametrul de peste 9 mm (Savio ș.a., 1993; Gong ș.a., 1996).

Astfel, după producerea parturii la vacile de lapte, creșterea secvențială a hormonului foliculostimulant (durată de 2 până la 3 zile) este inițiată în prima săptămână postpartum (Beam ș.a., 1999), determinând apariția primului val folicular din perioada postpartum (3 până la 5 foliculi cu diametrul de 4 până la 6 mm diametru), în decursul primelor 10 - 14 zile după fătare (Rajamahendran ș.a., 1990).

Fiecare val folicular implică apariția, selecția și dominanța, urmată de atrezie sau ovulație. Deoarece concentrațiile de FSH scad, un folicul este selectat pentru a continua dezvoltarea, devenind folicul dominant. Acest folicul dominant este considerat că suprimă secreția de FSH și apariția unui nou val folicular, datorită producției de inhibină și estradiol (Peter ș.a., 2009).

Abilitatea acestui folicul de a crește și de a ovula depinde de modificările concentrațiilor și de disponibilitatea mai multor factori de creștere foliculară (factorul de creștere insulin-like, proteinele lor de legare (Fortune ș.a., 2004), precum și pulsilitatea crescută a LH-ului (Canfield ș.a., 1990).

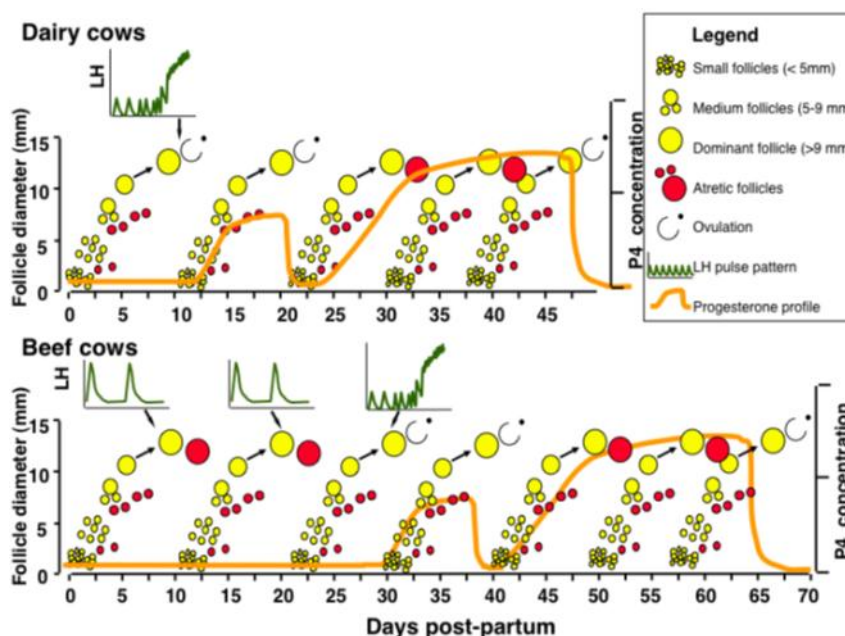


Fig. 1.2 Reprezentare schematică a valurilor foliculare la vacile de lapte și de carne (Crowe ș.a., 2013)

Fig. 1.2 Schematic representation of follicular waves in dairy and beef cows (Crowe et al., 2013)

Un folicul dominant poate rezulta din primul val folicular, dar ovulația acestuia va apărea doar dacă foliculul produce o cantitate suficientă de estradiol pentru a stimula o secreție adecvată de LH, sub forma unui impuls pe oră; în cazul în care activitatea foliculară se desfășoară în acest mod, apare o primă ovulație la 21 de zile pentru vacile de lapte și la 31 de zile, pentru vacile de carne (Adams ș.a., 1999).

În prezența unor titruri crescute de progesteron (faza luteală a animalelor ciclice), frecvența impulsului de LH este menținută la un impuls la fiecare 4 ore, iar foliculul dominant devine atretic. În faza foliculară (perioada preovulatorie la animalele ciclice), frecvența impulsului de LH crește la un impuls pe oră, stimulând maturarea finală a foliculului, creșterea concentrațiilor de estradiol și feedback-ul pozitiv asupra GnRH-ului, LH-ului (și FSH-ului), într-un val care induce ovulația foliculului dominant (Sunderland ș.a., 1994).

Implicat în debutul precoce al foliculogenezei și ovulației este și factorul de creștere insulin-like (IGF-1). Acesta acționează prin stimularea activității aromatazei din celulele granuloase și în sinteza estradiolului (Adams ș.a., 1999). După producerea ovulației, se instalează faza luteală care poate avea o durată normală cu revenirea estrului la 18-24 zile, sau poate fi mai scurtă, cu apariția semnelor estrale la 14 zile sau mai puțin; apariția estrului mai devreme de 14 zile de la cel anterior are loc în general

la doar 25% dintre vacile de lapte, în timp ce pentru cele de carne, incidența este de aproximativ 78% (Adams ș.a., 1999).

În absența unei ovulații, foliculul dominant devine atretic sau chistic; pentru vacile la care foliculul dominant devine atretic, va urma un nou val folicular, cu selectarea de noi foliculi dominanți (Peter ș.a., 2009).

În mod normal, valurile foliculare au o durată de viață de 7 - 10 zile de la apariția primului val folicular și până la apariția următorului (indicând fie ovulația, fie atrezia fiziologică a foliculului dominant). La vițelele ciclice, în timpul unui ciclu estral normal de 21 de zile, apar în general 3 valuri foliculare (cu o variație între 1 și 4 valuri foliculare) (Savio ș.a., 1988; Murphy ș.a., 1991).

1.1.3. Controlul endocrin al funcției de reproducere în perioada postpartum, la vacile de lapte

Reluarea normală a activității reproductive la vaci în perioada postpartumului timpuriu, se bazează pe o bună coordonare între hipotalamus, hipofiză, ovare și uter (Lamming ș.a., 1982; Karg ș.a., 1983).

S-a demonstrat că hormonul luteinizant (LH), este cel mai important factor ce limitează reluarea timpurie a activității ovariene după producerea parturii.

Pe perioada gestației și în apropierea parturii, nivelurile plasmatice ridicate de hormoni steroizi suprimă axa hipotalamo-hipofizară, determinând astfel scăderea marcantă a concentrațiilor hipofizare de LH la momentul parturii (Nett, 1987). După producerea acesteia, nivelurile plasmatice de hormoni foliculostimulant (FSH) și luteinizant (LH) sunt scăzute, fără nicio eliberare episodică. Eliberarea FSH-ului plasmatic este scăzută doar pentru câteva zile, înainte și după parturie.

În marea majoritate a cazurilor la vacă, nivelurile de FSH plasmatic au crescut deja la 5 zile după fătare (Schams ș.a., 1978) și nu sunt considerate a fi un factor limitator pentru reluarea normală a ciclicității ovariene postpartum (Lamming ș.a., 1981).

Creșterea nivelului plasmatic de FSH determină creștere foliculară și secreție ovariană de estradiol (Lamming ș.a., 1982; Karg ș.a., 1983), determinând astfel apariția primului folicul dominant la 11 zile după producerea parturii (Savio ș.a. 1990). Secreția crescută a estradiolului exercită un efect stimulator (feedback pozitiv) asupra secreției de LH, crescând astfel receptivitatea hipofizei la stimularea hipotalamică. Aceste constatări au fost confirmate prin administrarea exogenă de gonadoliberină (GnRH) în perioada postpartumului timpuriu.

Aceste experimente au confirmat faptul că receptivitatea hipofizei în perioada postpartum la GnRH nu este restabilită până la 10 zile sau chiar și mai mult și că doar tratamentul preventiv cu estradiol este corelat cu gradul de eliberare al LH-ului (Fernandes ș.a. 1978).

La vacă, după inhibiția anterioară impusă de gestația avansată, nivelurile de LH se redresează semnificativ mult mai târziu decât în cazul nivelurilor de FSH sugerând

astfel, un mecanism de control diferit pentru aceste două gonadotrofine (Foster ș.a., 1980).

Concentrațiile medii de LH sunt scăzute în decursul primelor zile postpartum, deși există o eliberare pulsatilă, dar rară și de mică amplitudine (Schallenberger ș.a., 1990). Pentru că nu au putut demonstra acest model de eliberare pulsatilă de LH până în ziua 10 postpartum, unii autori au sugerat că debutul eliberării de LH a fost corelat cu momentul primei ovulații postpartum (Peter ș.a., 1984). Datorită mecanismului de feedback pozitiv impus de concentrațiile crescute de estradiol, nivelurile sanguine periferice de LH cresc în decursul celei de-a doua și a treia săptămână postpartum, fapt demonstrat de frecvența crescută a eliberării pulsatile de LH.

În momentul în care frecvențele de impulsuri ale ambelor gonadotrofine (FSH și LH) cresc la cel puțin un impuls/oră, debutul primul ciclu estral devine posibil (Schallenberger ș.a., 1990).

Având în vedere că interrelația dintre ovare și uter (secreția de prostaglandină) se normalizează în momentul în care involuția uterină este completă, ciclurile estrale fertile pot debuta din ziua 20 - 25 postpartum (Karg ș.a., 1983).

Deși studiile bazate pe profilurile progesteronului din laptele vacilor recent fătate confirmă cele menționate anterior, majoritatea autorilor menționează o prelungire foarte mare a intervalului de la fătare la prima ovulație. Acest lucru este cauzat de varietatea factorilor care influențează reluarea activității ovariene după parturiție.

Cei mai importanți dintre aceștia sunt reprezentați de: producția de lapte, bilanțul energetic și afecțiunile metabolice postpartum (Huszenicza ș.a., 1988), sezonul de fătare (McNatty ș.a., 1984), vârsta sau paritatea vacii (Stevenson ș.a., 1979), tipul de stabulație (Bostedt ș.a., 1985), diferențele de rasă (Masilo ș.a., 1992) și modul cum se desfășoară parturiția și puerperiumul (Esslemont ș.a., 1982).

CAPITOLUL II. SINDROMUL DE ANESTRU LA VACĂ

CHAPTER II. ANESTRUS SYNDROME IN CATTLE

2.1. Factorii care influențează apariția sindromului de anestru

Anestrul, cea mai mare componentă a infertilității postpartum, este favorizat în apariția sa de mai mulți factori, cum sunt: nutriția, prezența vițelului (suptul), condiția corporală, factorii de stres, producția de lapte, rasa, genotipul, paritatea, vârsta, parturițiile distocice, inflamațiile uterine acute/ cronice sau unele ovaripatii.

2.1.1. Inflamațiile uterine acute și cronice la vacă

Una dintre cele mai importante cauze de infertilitate la vacă este reprezentată de complexul de afecțiuni ce includ retenția anexelor fetale, metrita puerperală, edometrita, piometrul și alte infecții nespecifice ale uterului (Arthur ș.a., 2001).

Aceste afecțiuni sunt produse de obicei agenți etiologici comuni, se potențează una pe cealaltă și în mare măsură, se folosesc tratamente comune. Un anumit grad de contaminare bacteriană a uterului este inerentă fie în timpul, fie după parturiție, dar și în cazul montei naturale sau inseminării artificiale.

Indiferent dacă infecția uterului se produce sau nu, pentru dezvoltarea bacteriană, depinde de nivelul de contaminare, de mecanismele de autopărare uterine și de prezența țesutului devitalizat (Arthur ș.a., 2001). Prezența infecțiilor bacteriene uterine este importantă, deoarece nu numai că perturbă funcția uterină, ci și a ovarului și a centrelor superioare de control, cum sunt hipotalamusul și hipofiza.

În mod normal, 25 - 40% dintre vaci prezintă semne clinice de metrită în primele două săptămâni postpartum, persistând mai apoi ca endometrită clinică sau acută la doar 20% dintre acestea.

Factorii care predispun vacile la infecțiile uterine sunt fie asociați în mod direct cu funcția tractului reproducător și cu starea generală a vacii, fie indirect cu condițiile de întreținere a animalelor (tabelul 1).

În ceea ce privește definirea patologiilor de la nivel uterin, de-a lungul timpului, cercetătorii au încercat realizarea unei clasificări care să descrie perfect afecțiunile uterine ce pot apărea în perioada puerperală la vacă.

Tabelul 2.1 Factori de risc pentru apariția afecțiunilor uterine bacteriene, la vacile de lapte (Sheldon ș.a., 2004)

Table 2.1 Risk factors for bacterial uterine disorders in dairy cattle (Sheldon et al., 2004)

Afecțiuni uterine

- nașterea unui vițel mort, parturiția gemelară, distocia, operația de cezariană;
- retenția anexelor fetale;
- involuția uterină întârziată;

Afecțiuni metabolice

- febra vituleră; cetoza și deplasarea abomasumului;

Echilibrul dintre imunitate și patogenitate

- perturbarea funcției neutrofilelor;
- tipul florei bacteriene de la nivelul lumenului uterin;
- administrarea de progesteron sau glucocorticoizi; formarea timpurie a corpului luteal;
- nivelul de igienă din fermă

În acest sens, în cele ce urmează, vom realiza o descriere a celor mai importante afecțiuni uterine, considerate și cele mai importante cauze de infertilitate la vacile pentru lapte.

Metrita puerperală este o afecțiune sistemică acută, cauzată de infecția bacteriană a uterului în decursul primelor 10 zile postpartum. Semnele clinice sunt însoțite de obicei de febră, includ prezența unei descărcări uterine fetide, de culoare maro, apoasă, precum și alterarea stării de sănătate (Drugociu ș.a., 2015).

În cazurile severe, poate apărea scăderea producției de lapte, lentoare, inapetență, ritm cardiac crescut și deshidratare aparentă. Această afecțiune este frecvent asociată cu retenția anexelor fetale, distociile, fătarea de vițel morți sau parturițiile gemelare. De asemenea, animalele care prezintă uter mărit în volum și prezența secrețiilor uterine purulente detectabile la nivel vaginal, dar fără semne clinice de boală, pot fi încadrate ca având endometrită clinică (Sheldon ș.a., 2008).

Endometrita clinică este caracterizată de prezența unui exudat uterin purulent (> 50% puroi) sau mucopurulent (50% puroi și 50% mucus) la nivel vaginal, începând cu ziua 21 postpartum sau mai târziu, însă fără prezența semnelor sistemice (Sheldon ș.a., 2008).

Endometrita subclinică este definită ca o inflamație endometrială, ce se determină cu ajutorul citologiei uterine, în absența unui exudat purulent la nivel vaginal (Sheldon ș.a., 2008).

Se consideră endometrită subclinică, în momentul în care în urma citologiei uterine, se constată prezența a peste 18% neutrofile în proba de citologie colectată la 21- 33 zile postpartum, sau prezența a peste 10% neutrofile la 34 - 47 zile postpartum, în absența unei endometrite clinice (Sheldon ș.a., 2008).

În ceea ce privește prevalența endometritei subclinice, în cadrul mai multor studii se afirmă că variază de la 20% până la 90%, în funcție de pragul utilizat și de calendarul de examinare postpartum (Janowski ș.a., 2013).

Aspecte imunologice ale afecțiunilor uterine la vacile de lapte

Bacteriile din mediul înconjurător contaminatează lumenul uterin al majorității vacilor aflate în perioada postpartum. Eliminarea acestei contaminări este dependentă de involuția uterină, regenerarea endometrului și de mecanismele de autoapărare uterină (Ptaszynska, 2009).

Sistemul imunitar al uterului vacilor este activ pe perioada gestației, jucând un rol important în menținerea acesteia, susținând astfel dezvoltarea fetală și prevenirea infecțiilor. Sistemul de apărare al organismului este principalul responsabil pentru combaterea contaminării uterine printr-o serie de mecanisme anatomice, fiziologice, fagocitare și inflamatorii.

Neutrofilele reprezintă cele mai vechi și importante celule fagocitare care sunt recrutate din circulația periferică la nivelul lumenului uterin în cazul unei infecții bacteriene. Modificările hormonale și alterările răspunsului imun din perioada periparturientă au fost asociate cu creșterea susceptibilității la infecții ale uterului, glandei mamare și altor țesuturi (Ptaszynska, 2009).

În urma parturii, capacitatea fagocitară a neutrofilelor din circulația periferică rămâne crescută pe toată perioada fătării, însă capacitatea bactericidă și activitatea oxidativă a neutrofilelor sunt ușor afectate în timpul parturii (Singh ș.a., 2008).

Aceste activități cresc în intensitate la o săptămână postpartum, ceea ce favorizează rezoluția spontană a infecțiilor uterine. În timpul perioadei prepartum apare o creștere a nivelului de cortizol, determinând leucocitoză periferică, urmată de leucopenie periferică în decursul primei săptămâni postpartum, cea din urmă fiind determinată de migrarea neutrofilelor către lumenul uterin imediat după fătare (Ptaszynska, 2009).

Potrivit lui LeBlanc (2008), atât metrta cât și endometrita sunt asociate cu un aport redus de hrană, un bilanț energetic negativ pronunțat și o funcție imună scăzută, aceste diferențe fiind decelabile cu 2 săptămâni înainte de fătare, adică cu aproximativ 3 - 7 săptămâni înainte de diagnosticarea acestor afecțiuni.

Zerbe ș.a. (2000), au demonstrat că afecțiunile metabolice, în special un nivel sanguin crescut de triacilgliceroli la nivel hepatic au fost asociate cu o activitate citotoxică redusă în neutrofile, obținută atât din circulația generală cât și din peretele uterin, cel mai probabil predispunând vacile la dezvoltarea afecțiunilor uterine.

Bacteriologia infecțiilor uterine la vacă

Endometritele acute sunt caracterizate de prezența bacteriilor coliforme Gram-negative anaerobe, *Arcanobacterium pyogenes* și alte bacterii (incluzând și peptostreptococi), fiecare cu o frecvență similară. Endotoxinele și lipopolizaharidele excretate de bacteriile coliforme, sunt considerate cei mai importanți factori de virulență care determină apariția distociilor și retenției anexelor fetale la vacile de lapte. Aceste endotoxine au un rol citotoxic direct, ceea ce favorizează probabil stabilirea unor infecții cu *Arcanobacterium pyogenes* (Ptaszynska, 2009).

Astfel, un nivel ridicat de contaminare endometrială cu *Escherichia coli* în perioada postpartumului timpuriu, are un efect negativ asupra funcției mecanismelor de apărare endometrială și facilitează persistența infecțiilor uterine (Ptaszynska, 2009).

La vacile cu endometrite subacute/cronice, cele mai frecvent izolate bacterii de la nivel uterin sunt *Arcanobacterium pyogenes* și bacteriile anaerobe Gram-negative. Această bacterie Gram-pozitivă facultativ anaerobă este prezentă în mod obișnuit în cultură mixtă, cel mai adesea cu *E.coli* sau *Streptococcus spp.* și cu cei doi anaerobi *Fusobacterium necrophorum* și *Prevotella melaninogenicus* (Ptaszynska, 2009).

Influența negativă a infecțiilor uterine bacteriene este asociată atât cu prezența bacteriilor și a toxinelor acestora, cât și cu distrucțiile cauzate de procesele inflamatorii care au loc ca răspuns la prezența infecției. Prezența *A. pyogenes* sau a bacteriilor anaerobe favorizează scăderea fertilității și este importantă atenția acordată endometritelor, întrucât acestea produc infertilitate la momentul infecției și subfertilitate, chiar și după rezoluția bolii (Ptaszynska, 2009).

Potrivit lui Blanc ș.a. (2002), vacile care au prezentat endometrite, au rate de concepție cu aproximativ 20% mai scăzute și un calving interval cu 30 de zile mai lung, ceea ce înseamnă 3% mai multe animale sacrificate din cauza eșecului de a se reproduce. Subfertilitatea asociată cu infecțiile uterine implică de asemenea întreruperea funcției ovariene.

Opsomer ș.a. (2000), au sugerat că leziunile de la nivel uterin perturbă mecanismele luteolitice, determinând prelungirea fazei luteale.

Aceste studii au indicat de asemenea că infecțiile uterine conduc la întârzierea ovulației, iar Sheldon ș.a., au evidențiat în cadrul unui studiu realizat în anul 2002 că la vacile de lapte, funcția ovariană în perioada postpartum este perturbată în cazul unei contaminări uterine bacteriene, ceea ce se manifestă printr-o rată mai lentă a producției de estradiol de către primul folicul dominant din perioada postpartum.

Pe lângă efectele asupra fertilității, infecțiile uterine contribuie la scăderea producției de lapte, în special dacă sunt asociate cu retenția anexelor fetale (Esslemont ș.a., 2002; Sheldon ș.a., 2004).

Potrivit lui Sheldon ș.a. (2006), prevalența endometritelor în efectivele de vaci specializate în producția de lapte, variază între 7,5 - 8,9% și peste 40%. Cu toate acestea, cercetările ulterioare efectuate în acest sens, au evidențiat că prevalența

endometritelor diagnosticate citologic a atins procente cuprinse între 37 și 74, pentru perioada 40 - 60 de zile postpartum (Ptaszynska, 2009).

Diagnosticul infecțiilor uterine

Protocolul de diagnosticare a stării de sănătate a uterului la vaci, urmărește o examinarea clinică detaliată, completată cu investigațiile suplimentare de laborator a probelor recoltate. Datele cu privire la istoricul reproductiv al animalului, deși nu au valoare de diagnostic, sunt considerate necesare atât pentru evaluarea factorilor cauzali, cât și pentru stabilirea tratamentului (pentru vacile ciclice sau pentru cele cu anestrus) (Ptaszynska, 2009).

Diagnosticul metritei în primele 10 zile postpartum este relativ ușor de stabilit, fiind asociată cu prezența febrei, a secreției uterine purulente cu miros fetid exteriorizată la nivelul vulvei, precum și cu o involuție uterină întârziată. Cu toate acestea, trebuie avută grijă la evaluarea tractului genital pentru diagnosticarea precoce a metritei, având în vedere procesul fiziologic al involuției uterine.

Prezența unei secreții lochiale roșii-maronii este normală în primele două săptămâni postpartum, în plus febra cu o durată de 1 - 2 zile este frecvent întâlnită în primele două săptămâni postpartum și nu este corelată cu prezența unei infecții uterine (Sheldon ș.a., 2004).

Examinarea transrectală permite estimarea mărimii, poziției și conținutului uterin. Detectarea unei acumulări de lichid la nivelul acestuia, este posibilă doar dacă s-au acumulat cantități considerabile de exudat, însă fără a putea stabili caracterul conținutului sau starea peretelui uterin.

În acest sens, în scop de diagnostic se utilizează ultrasonografia transrectală, care permite o măsurare obiectivă a diametrului coarnelor uterine și a colului uterin, precum și aprecierea prezenței mucusului sau al puroiului în lumenul uterin (Ptaszynska, 2009).

Utilizarea vaginoscopiei în scop de diagnostic pentru patologii uterine este o tehnică superioară examinării transrectale, însă este insuficient utilizată în mare parte din cauza timpului și a efortului necesar, dar și din cauza costului echipamentului. Bonnet ș.a. (1993), recomandă pentru stabilirea unui diagnostic de certitudine al endometritei la vaci, examinarea histologică a probelor de biopsie endometrială, însă potrivit studiilor ulterioare, pe lângă faptul că această tehnică a fost considerată costisitoare, s-a dovedit că recoltarea probelor de biopsie poate avea un efect negativ supra fertilității (Ptaszynska, 2009).

Diagnosticarea endometritelor subclinice este mai greu de realizat, având în vedere că într-un studiu realizat de Intervet, doar 51% dintre vacile cu endometrită subacută/cronică au prezentat secreții vaginale vizibile la exterior (Ptaszynska M., 2009).

Citologia uterină oferă informații valoroase, permițând diagnosticarea cazurilor de endometrită subclinică (Gilbert ș.a., 2005; Kasimanickam ș.a., 2004, Sheldon ș.a., 2004, 2006, 2008).

Neutrofilele polimorfonucleare (PMN) sunt tipul predominant de celulele inflamatorii ce se găsesc în fluidul intrauterin, iar determinarea proporției de PMN s-a dovedit a fi predictivă pentru performanța reproductivă a vacilor aflate în perioada postpartum. Colectarea probelor poate fi realizată fie cu ajutorul unui tampon de bumbac protejat inserat în uter, prin lavaj uterin sau cu ajutorul unui dispozitiv denumit cytobrush (Ptaszynska, 2009).

În urma unui studiu realizat de Barlund ș.a. (2008), s-a comparat acuratețea diagnosticului endometritelor stabilit prin histeroscopie, evaluarea ultrasonografică a volumului de fluid intrauterin, evaluarea ultrasonografică a grosimii endometrului, citologie endometrială prin utilizarea cytobrush-ului și citologie endometrială prin lavaj uterin. Astfel, în urma comparării acestor metode de diagnostic, cea mai bună metodă pentru diagnosticarea endometritelor subclinice la vaci, a fost considerată citologia endometrială prin utilizarea cytobrush-ului.

Din păcate însă, nici una dintre metodele enumerate mai sus nu este utilizată la scară largă în domeniu, iar diagnosticul afecțiunilor uterine se realizează de obicei, cu ajutorul examinării clinice.

Pentru diagnosticarea endometritelor clinice, examinarea vaginală cu scopul identificării secrețiilor purulente este metoda cu cea mai mare acuratețe.

Astfel, utilizarea histeroscopiei este prin urmare foarte recomandată pentru diagnosticarea endometritelor, o alternativă la aceasta în cazul în care prima metodă nu este realizabilă, fiind examinarea vaginală clasică cu retragerea mucusului cervical pentru examinarea ulterioară a acestuia (Ptaszynska, 2009).

Avantajul celei de-a doua metode îl reprezintă costurile foarte scăzute, este o metodă ieftină și permite identificarea mirosurilor sau a lăcherărilor vaginale (Sheldon ș.a., 2006). Această metodă implică curățarea vulvei cu ajutorul unui prosop de hârtie, introducerea unei mâini acoperite cu o mănușă curată și lubrifiată prin vulvă în vagin, urmată de retragerea conținutului vaginal pentru examinarea ulterioară. Pentru extragerea conținutului vaginal, pe lângă metoda manuală, poate fi utilizat și dispozitivul Metrichcek (Metrichcek®, Simcro, Noua Zeelandă), format dintr-o tijă din oțel inoxidabil cu o emisferă de cauciuc (Ptaszynska, 2009).

Evaluarea endometritei se realizează pe baza statusului uterin și a caracteristicilor mucusului vaginal. Un sistem de evaluare a mucusului este adoptat pe scară largă, pentru indicarea gradului procesului inflamator.

Mucusul vaginal este notat pentru caracterul și mirosul acestuia, conform următoarelor descrieri:

Tabelul 2.2 Stabilirea scorului endometritelor (Sheldon ș.a., 2004)
Table 2.2 Endometritis score establishment (Sheldon et al., 2004)

Descriere	Scor
Caracterul mucusului	
Clar sau mucus translucid	0
Clar sau mucus translucid cu mici flocoane de puroi	1
< 50ml exudat care conține < 50% puroi alb sau crem	2
> 50ml exudat care conține > 50% puroi crem sau sângeros	3
Mirosul mucusului	
Fără miros neplăcut	0
Miros fetid	3

Tratamentul infecțiilor uterine la vacă

În terapia metritelor puerperale acute există trei obiective principale care trebuie abordate: eliminarea infecției bacteriene, tratarea semnelor generale de toxemie și minimizarea daunelor provocate de procesul inflamator și toxic (Ptaszynska, 2009).

Tratamentul antibacterian recomandat metritelor la vaci conține antibiotice cu spectru larg de acțiune și produse cu administrare intrauterină. Potrivit lui Sheldon ș.a. (2004) și Drilrich ș.a. (2006), administrarea de cefalosporine (Ceftiofur sau Metricure), este foarte des utilizată pentru tratarea metritelor.

De asemenea, potrivit lui Drilrich ș.a. (2007), administrarea antiinflamatoriilor nesteroidiene, ajută la reducerea temperaturii corporale și îmbunătățirea aspectului clinic la vacile cu metrite acute. În cazul administrării de antiinflamatorii nesteroidiene în terapia metritelor, trebuie avut în vedere faptul că acestea inhibă producția de prostaglandine endogene din acidul arahidonic, în acest caz aportul exogen de PGF_{2α} (prostaglandină F₂ alfa) fiind imperios necesar.

La cazurile de endometrită care evoluează cu prezența unui corp luteal persistent pe suprafața ovarului, tratamentul constă în administrarea intrauterină a antibioticelor, completat cu administrarea de PGF_{2α}.

Aportul exogen de PGF_{2α} induce luteoliză, reducând nivelurile de progesteron circulant, eliminând efectul imunosupresiv și permițând uterului eliminarea infecțiilor (Murray ș.a., 1990; Lewis ș.a., 1997; Heuwieser ș.a., 2000).

Lewis (2004), sugerează că administrarea prostaglandinelor în tratamentul endometritelor fără un corp luteal persistent prezent pe unul dintre ovare, poate aduce avantaje printr-un efect benefic direct al PGF_{2α} asupra funcției imune de apărare a uterului.

Așa cum s-a menționat, o combinație de prostaglandine și antibiotice administrate intrauterin par să ofere cea mai bună soluție pentru eliminarea infecțiilor și prevenirea recidivei în fazele luteale ulterioare (Lewis, 2004; Kasimanickam ș.a., 2005; Sheldon ș.a., 2006; LeBlanc, 2008).

În cazul piometrului, tratamentul cu prostaglandină poate fi utilizat în tratarea acestei afecțiuni. Corpul luteal regresează, urmat de maturarea unui nou folicul, contractilitatea uterină crește, cervixul se relaxează, iar materialul purulent este eliminat.

Modificarea echilibrului hormonal (creșterea estrogenului/ scăderea progesteronului), stimulează mecanismele de autoapărare uterină, însă rezultatele tratamentului depind în mare măsură de momentul în care acesta a fost efectuat, în acest sens vacile trebuind să fie monitorizate îndeaproape, întrucât recidiva este frecventă (Ptaszynska, 2009).

Având în vedere natura distructivă a piometrului, orice infuzie intrauterină în scop de tratament trebuie să nu fie iritantă, pentru a se preveni distrucția endometrială (Ptaszynska, 2009).

2.1.2. Nutriția și condiția corporală

Imediat după parturiție, nevoile energetice ale vacilor pentru lapte cresc semnificativ datorită cerințelor energetice mari asociate producției de lapte, impunând astfel un metabolism catabolic.

Echilibrul energetic reprezintă rezultatul net al aportului de energie minus energia consumată pentru întreținere, creștere și producția de lapte (Ambrose, 2014).

Vacile pentru lapte rareori intră într-o stare de bilanț energetic negativ în timpul perioadei de repaus mamar, cu excepția perioadei de prepartum imediat când aportul de substanță uscată scade, cele mai multe vaci lactante sunt în imposibilitatea de a-și satisface nevoile energetice după parturiție și devin invariabil deficitare din punct de vedere energetic (Ambrose, 2014).

Vacile subnutrite împreună cu cele cu producții mari de lapte în perioada postpartumului timpuriu, necesită mai mult de 10 zile pentru a concepe, față de cele bine furajate (Dobson ș.a., 2007). Bilanțul energetic negativ instalat din cauza unui aport inadecvat de nutrienți în raport cu cerințele metabolice pentru producția de lapte sau gestație, este un factor major de prelungire a perioadei de anestrus postpartum (Peter ș.a., 2009).

Umplerea fizică a rumenului este unul dintre factorii care limitează cantitatea maximă de substanță uscată la vacile aflate în perioada postpartumului timpuriu. Chiar dacă aportul de substanță uscată este maximizat, vacile selectate pentru producția de lapte utilizează selectiv toți nutrienții disponibili pentru producția de lapte, în detrimentul condiției corporale (Bauman ș.a., 1980).

Astfel, împărțirea nutrienților împiedică organismul vacii să pună capăt unei stări catabolice, deoarece toată cantitatea de glucoză disponibilă este utilizată preferențial pentru sinteza laptelui (Lucy ș.a., 2007).

În ciuda progreselor realizate pentru înțelegerea nutriției vacilor de lapte și a disponibilității unui program de înaltă precizie de echilibrare a rațiilor, satisfacerea tuturor nevoilor energetice ale unei vaci pentru lapte continuă să reprezinte o

provocare, plasând vacile într-o stare de bilanț energetic negativ care se poate extinde în primele 10 - 12 săptămâni postpartum (Butler, 2003).

Vacile pentru lapte care prezintă un bilanț energetic negativ, au titruri scăzute de insulină și factorul de creștere insulin-like (IGF-1). Concentrațiile circulante scăzute ale IGF-1 reduc feedback-ul negativ asupra hormonului de creștere (GH), determinând astfel amplificarea concentrațiilor acestuia.

Creșterea GH-ului determină la nivel hepatic o gluconeogeneză intensificată, facilitând mobilizarea țesutului adipos (lipoliza) și eliberarea acizilor grași neesterificați (NEFA). Concentrațiile crescute de GH și NEFA antagonizează acțiunea insulinei, generând o rezistență la insulină a vacilor de lapte aflate în perioada postpartum (Lucy, 2007; Overton, 2012) rezistență care diminuează utilizarea glucozei de către țesuturile non-mamare și conservarea acesteia pentru sinteza laptelui (Ambrose, 2014).

Bilanțul energetic negativ este puternic asociat cu lipsa ovulației în perioada postpartum, prin scăderea frecvenței impulsurilor de LH și prin concentrațiile sanguine scăzute de glucoză, insulină și IGF-1 care limitează colectiv producția de estrogen de către foliculul dominant (Butler, 2003), esențială pentru creșterea LH-ului, producând astfel întârzierea ovulației.

Pe lângă faptul că bilanțul energetic negativ interferează cu funcția reproductivă, predispune și la anumite tulburări ginecologice cum ar fi distocia, retenția anexelor fetale, endometrite și metrite, precum și prevalența tulburărilor metabolice (hipocalcemia, cetoza, boala ficatului gras) (Roche ș.a., 2006). În mod similar vacilor subnutrite, și cele cu grăsime corporală excesivă prezintă o incidență crescută a distociilor și a bolii ficatului gras, împreună cu un randament scăzut al producției de lapte și infertilitate (Montiel ș.a., 2005).

O densitate crescută în adăposturile de vaci va crește competiția pentru hrană, un adăpost incorect realizat descurajează vacile să se deplaseze frecvent la standul de furajare, barierele fizice care limitează accesul liber și continuu la furaje, sortarea excesivă a furajului de către vacile care ajung în primul rând la standul de furajare și îngrijirea inadecvată a ongloanelor duc la o prevalență crescută a afecțiunilor podale, sunt toate cauze care pot reduce aportul de substanță uscată (Ambrose D.J., 2014).

Mai mult decât atât, situațiile de ierarhie socială în care animalele tinere sau subordonate sunt intimidat de către cele dominante, terenul alunecos al adăpostului și alți factori stresanți, pot descuraja vacile să aibă un acces confortabil la furaje, limitând consumul de substanță uscată și astfel se produce creșterea numărului de vaci cu bilanț energetic negativ (Ambrose D.J., 2014).

Apariția anestrului la vaci nu este cauzat doar de subnutriție sau malnutriție, ci apare și din cauza consumului mare de furaje care favorizează accelerarea metabolismului și clearance-ului hormonilor steroizi ovarieni (estrogen și progesteron) din organism, prin creșterea perfuziei hepatice (Sangsritavong S. ș.a., 2002), în special la vacile cu producții mari de lapte.

Concentrațiile scăzute de estrogeni întâlnite la vacile cu producții mari de lapte determină instalarea unei stări de subestru, deoarece intensitatea semnelor estrale este direct corelată de concentrația estrogenică (Lyimo ș.a., 2000; Lopez ș.a., 2004).

De asemenea, clearance-ul excesiv al steroizilor ovarieni conduce la anovulație (Walsh ș.a., 2007) și regresie luteală întârziată (Opsomer ș.a., 2000; Petersson ș.a., 2006).

Prin urmare, atât subnutriția cât și bilanțul energetic negativ, sunt cei mai importanți factori care influențează ciclitatea ovariană în perioada postpartumului timpuriu, reprezentând o cauză principală a scăderii ratei de concepție la vacile pentru lapte (Robinson, 1990).

2.1.3. Prezența vițelului (Suptul)

Prezența vițelului (suptul), reprezintă o cauză majoră care contribuie la apariția sindromului de anestru la vacile de carne (Williams, 1990), situație care nu se aplică și în cazul vacilor de lapte, având în vedere practica industrială de separare a vițelilor imediat după fătare.

Cu toate acestea, în condiții experimentale când perechi gemene de vaci de lapte au fost repartizate separat pentru a alăpta mai mulți viței sau să fie mulse automat de două ori/zi, s-a observat că pentru cele care au alăptat, perioada de așteptare voluntară a fost mai lungă cu 5 - 9 săptămâni, spre deosebire de cele mulse automat (Ambrose, 2014).

Concentrațiile plasmatice bazale de LH nu au diferit între vacile de lapte care au alăptat și cele care au fost mulse automat de două ori/ zi, deși eliberarea LH-ului indusă de GnRH a crescut progresiv la vacile mulse automat din săptămâna 0 până în săptămâna 6 după fătare, iar răspunsul LH-ului la două săptămâni postpartum a fost semnificativ mai mare la vacile mulse, spre deosebire de cele care au alăptat viței (Smith ș.a., 1981).

Suprimarea activității ovariene în perioada postpartum la vacile care alăptează se realizează prin stimularea de către supt a secreției de prolactină, cortizol și oxitocină, care au un efect negativ asupra axei GnRH-LH (Kumar, 2014).

Nivelul crescut al acestor hormoni suprimă secreția GnRH și crește concentrația peptidelor opioide endogene, așa cum este beta-endorfina (Malven ș.a., 1986), reducând în cele din urmă frecvența impulsului de LH (Williams, 1990) și întârzierea reluării ciclicității postpartum (Kumar ș.a., 2014).

2.1.4. Factorii de stres

Există mai mulți factori care s-au dovedit a afecta durata anestrului postpartum la vacile de lapte; de fapt, orice factor de stres este capabil să afecteze în sens negativ funcția reproductivă (Dobson ș.a., 2000).

Un impact major al stresului îl reprezintă reducerea consumului de furaj, care s-a dovedit a fi un factor de risc pentru prelungirea perioadei de anestrul postpartum (Peter ș.a., 2009).

Stresul caloric este de asemenea un important factor care afectează starea de sănătate a vacilor de lapte, perturbând atât procesele fiziologice, metabolice, hormonale, cât și sistemul imunitar.

Zona termoneutră a vacilor de lapte este 16 - 25°C, deși o temperatură care depășește 20 - 25°C în climatul temperat, poate induce stresul caloric (Kadzere ș.a., 2002). În consecință, temperatura corporală și rectală cresc împreună cu ritmul cardiac și respirator, având efecte asupra consumului de furaje, producției de lapte și eficienței reproductive a vacilor de lapte. Sensibilitatea vacilor la stresul termic crește odată cu producția de lapte (Das ș.a., 2016).

O altă consecință a stresului caloric este reprezentată de reducerea duratei și intensității estrului și implicit o incidență crescută a sindromului de anestrul la vacile de lapte (Kadokawa ș.a., 2012).

Centrul apetitului din hipotalamusul lateral este afectat în mod direct de o temperatură ambientală crescută, în cazul vacilor lactante consumul de furaje scăzând la temperaturi de 25 - 26°C (Eslamizad M. ș.a., 2015).

Afecțiunile dureroase care provoacă stres animalului, reduc fertilitatea prin interferența cu mecanismele din sistemul hipotalamo-hipofizo-ovarian, care sunt perturbate de activarea axei hipotalamo-hipofizo-suprarenale (Dobson ș.a., 2000; Sheldon ș.a., 2006).

Cele mai comune afecțiuni întâlnite la vacile de lapte sunt mamitele, schiopăturile, retenția anexelor fetale și hipocalcemia (Dobson ș.a., 2007). Afecțiunile podale urmate de mamite, sunt cele mai importante patologii generatoare de durere. Existența durerii la animale determină creșterea cortizolului, reduce apetitul, consumul de furaje și performanța reproductivă, reducând producția de lapte și în final extinderea calving intervalului (Esslemont ș.a., 1996).

2.1.5. Producția de lapte

Deși unii cercetători au identificat producția mare de lapte ca fiind un factor de risc pentru apariția sindromului de anestrul, alți cercetători (Rajala ș.a., 1998; Walsh ș.a., 2007; Santos ș.a., 2009) nu au găsit nicio asociere.

Într-un studiu realizat de Santos ș.a. (2009), s-a constatat că vacile cu o producție de lapte medie zilnică mai mică în primele 90 de zile postpartum (32,1 vs. 39,1, 43,6, 50 kg/ zi) au prezentat un risc mai crescut pentru apariția sindromului de anestrul.

Este puțin probabil ca o producție crescută de lapte să fie o cauză pentru sindromul de anestrul. Cu toate acestea, incapacitatea de a îndeplini cerințele energetice, conduc la stabilirea unui bilanț energetic negativ, fiind cel mai probabil un motiv pentru apariția sindromului de anestrul la vacă (Ambrose ș.a., 2014)

De asemenea, creșterea frecvenței mulsului de la două la trei sau patru ori pe zi, prelungește intervalul de la fătare la prima ovulație cu mai puțin de o săptămână. Când frecvența mulsului crește de la trei la șase ori pe zi, intervalul fătare - prima ovulație crește, dar nu în aceeași măsură ca în cazul alăptatului frecvent (Stevenson ș.a., 1997).

2.1.6. Rasa, genotipul și paritatea

Influența rasei asupra intervalului fătare - debutul activității luteale, a fost raportată în special la vacile din rasele de carne și la cele din rase metisate (Pleasant ș.a., 1993; Ducrot ș.a., 1994).

Perioada de anestrul postpartum este mai scurtă la vacile de lapte mulse mecanic comparativ cu vacile de carne care alăptează, în schimb, vacile de lapte care alăptează, au o perioadă de anestrul postpartum mai lungă decât cele din rasele de carne (Short ș.a., 1990).

Modul în care genotipul afectează reluarea ciclicității în perioada postpartum nu este pe deplin înțeles, dar se poate datora diferențelor fiziologice între rase, producția de lapte și consumul de hrană (Short ș.a., 1990).

Paritatea ca factor de risc pentru apariția sindromului de anestrul a fost raportată în numeroase studii (Ducrot ș.a., 1994; Opsomer ș.a., 2000; Santos ș.a., 2009). Majoritatea autorilor sugerează că vacile aflate la prima parturiție prezintă un risc mai mare de anestrul, din cauza prelungirii perioadei de așteptare până la prima ovulație.

De asemenea, acest lucru este parțial legat și de faptul că la vacile primipare, necesarul energetic este mult mai mare atât pentru a susține lactația, cât și pentru creștere (Short ș.a., 1990). Datorită acestui sistem prioritar de selectare a nutrienților, vacile tinere în continuă dezvoltare produc în general mai puțin lapte și se află pentru mai mult timp într-o stare de anestrul postpartum (Stevenson, 2004).

Având în vedere că la vacile multipare dezvoltarea corporală este finalizată, substanțele nutritive sunt prioritare pentru sinteza laptelui și inițierea ciclurilor estrale. Vacile multipare, în special cele cu patru sau mai multe parturiții, au un risc semnificativ mai crescut pentru apariția sindromului de anestrul, din cauza prelungirii fazei luteale (Ambrose ș.a., 2014).

Motivul prelungirii perioadei de anestrul postpartum ar putea fi acela că odată cu creșterea numărului de parturiții, uterul are nevoie de mai mult timp pentru a reveni la dimensiunea celui pregravid, crescând astfel riscul apariției anumitor afecțiuni (Opsomer ș.a., 2000).

2.1.7. Alte cauze directe și indirecte de apariție a sindromului de anestru la vacile de lapte

Condiția corporală – un scor de condiție corporală (BCS) mai mic de 3 pe o scară de la 1 la 5, este considerat un indicator al bilanțului energetic negativ (Opsomer ș.a., 2000; Santos ș.a., 2009).

Vacile cu scor corporal scăzut sunt mult predispuse de a prezenta anestru, influența condiției corporale asupra perioadei de anestru postpartum fiind mediată prin diferențele de frecvență ale impulsurilor de LH (Wright ș.a., 1987).

Vacile ciclice care au un BCS scăzut, tind să aibă rate slabe de concepție și pierderi embrionare mai mari (Santos ș.a., 2009; Moreira ș.a., 2001). O rată mai mare de pierdere a condiției corporale a fost asociată cu extinderea intervalului de la parturiție până la reluarea ciclicității ovariene sau a primei inseminări artificiale (Ambrose ș.a., 2014).

Durata repausului mammar - vacile la care repausul mammar este mai mare de 77 de zile au fost de trei ori mai expuse riscului de a prezenta anestru postpartum și de întârziere a ovulației (Opsomer ș.a., 2000).

În schimb, intervalul fătare - prima ovulație la vacile care nu au avut repaus mammar (s-au administrat în permanență diete bogate energetic), comparativ cu cele care au avut o perioadă de repaus mammar de 56 de zile (s-au administrat diete reduse energetic din ziua 56 până în ziua 29 prepartum, urmate de diete moderate energetic în ultimele 28 de zile, până la parturiție), a fost semnificativ mai scurt (13,2 vs. 31,9 zile) (Kim ș.a., 2003; Gümen ș.a., 2005).

Eficiența detecției semnelor estrale – estrul neobservat din cauza eficienței slabe de detecție, poate contribui frecvent la creșterea incidenței anestrului (Ambrose ș.a., 2007), exacerband severitatea acestui sindrom.

Sezonul de fătare și condițiile meteorologice - vacile la care parturiția are loc în anotimpul de iarnă prezintă întârzieri în reluarea ciclurilor estrale, comparativ cu cele la care parturiția are loc în anotimpul de vară (Hansen, 1985; Opsomer ș.a., 2000; Walsh ș.a., 2007). De asemenea, în condiții de căldură și umiditate extreme, vacile au o exprimare clinică redusă a semnelor estrale (Hansen, 1985), contribuind la creșterea anestrului cauzat de sub-estru (Ambrose ș.a., 2014).

Sistemul de întreținere - vacile întreținute în sisteme intensive de exploatare, au un risc mai mare de a prezenta anestru, spre deosebire de cele din sistemele extensive de creștere (Ambrose ș.a., 2014).

Vacile întreținute în stabulație legată sunt mai predispuse la anestru decât alte tipuri de întreținere (Ducrot ș.a., 1994); o explicație este faptul că vacile întreținute în stabulație legată au puține oportunități de a forma grupuri active din punct de vedere sexual, limitând semnele comportamentale estrale (Ambrose ș.a., 2014).

Designul adăpostului - un adăpost incorect proiectat limitează accesul la standul/ ieslea de furajare, afectează aportul de substanță uscată, predispunând vacile la un bilanț energetic negativ și astfel la anestru (Ambrose ș.a., 2014).

Afecțiuni postpartum - distocia, fătările gemelare și retenția anexelor fetale, pot predispute vacile la anestru (Opsomer ș.a., 2000; Walsh ș.a., 2007).

Tulburări metabolice - cetoza și deplasarea abomasumului au fost asociate cu întârziere în reluarea ciclicității ovariene și anovulație (Opsomer ș.a., 2000; Walsh ș.a., 2007), în special la vacile cu cetoză subclinică în decursul primei săptămâni postpartum (Drugociu ș.a., 2015).

Afecțiunile podale - riscul crescut al anestrului este asociat cu prezența afecțiunilor poadel în mai multe studii (Opsomer ș.a., 2000; Garbarino ș.a., 2004; Peake ș.a., 2011).

Mamitele - au fost identificate ca fiind factori de risc pentru apariția sindromului de anestru (Opsomer ș.a., 2000). Vacile care au suferit șchiopături și mamite, sau șchiopături și alți stresori severi, au prezentat un risc mai mare pentru debutul întârziat al ciclicității ovariene (Peake ș.a., 2011), spre deosebire de vacile care au prezentat doar mamite.

Alte afecțiuni - vacile diagnosticate cu pneumonie în decursul primei luni după parturiție, au fost de 5,4 ori mai expuse riscului de reluare a activității ovariene cu întârziere (Opsomer ș.a., 2000). Numeroase alte tipuri de boli sistemice pot determina un consum redus de substanță uscată, crescând riscul vacilor de a intra într-o stare de bilanț energetic negativ și ulterior anestru (Ambrose ș.a., 2014).

2.2. Definirea, clasificarea, diagnosticul, terapia și prevenirea sindromului de anestru la vacile de lapte

Anestru reprezintă lipsa expresiei estrului (sau absența semnelor estrale), în ciuda detecției eficiente a acestuia (Peter ș.a., 2009). Anestru este un fenomen normal asociat anumitor condiții fiziologice (pre-pubertate, în timpul gestației), dar devine patologic atunci când durata acestuia depășește media general acceptată (Madhuri ș.a., 2017).

2.2.1. Formele fiziologice de anestru

Animalele rămân în anestru în timpul anumitor etape fiziologice, care nu sunt legate în mod direct de fertilitate, referindu-ne la perioada de anestru fiziologic de înainte de pubertate, în timpul gestației, alăptării și perioadei de anestru postpartum timpuriu. Prin urmare, anestru fiziologic a fost clasificat astfel: anestru pre-pubertal, anestru gestațional, anestru lactațional și anestru postpartum (Kumar ș.a., 2014).

Anestru pre-pubertal

La animalele pre-pubertale, valurile foliculare sunt similare cu cele ale animalelor adulte, dar foliculii se dezvoltă ca răspuns la secreția de FSH numai până la stadiul de teacă internă și apoi regresează.

Astfel, vițelele rămân într-o stare de anestru fiziologic până înainte de debutul pubertății (Kumar ș.a., 2014).

Anestrul fiziologic pre-pubertal poate fi explicat prin faptul că frecvența scăzută a impulsului de LH are ca rezultat o creștere insuficientă a foliculilor; efectul inhibitor al opioidelor asupra secreției de LH și pragul înalt pentru efectul de feedback pozitiv al estradiolului, determină inhibiția unui eventual val de LH (Noakes ș.a., 2009).

La vițelele prepubertale, centrul tonic hipotalamic este destul de sensibil la efectul negativ generat de estradiol, astfel încât frecvența eliberării GnRH-ului și ulterior al LH-ului rămân scăzute (Ahmadzadeh ș.a., 2011).

Anestrul gestațional

Nivelul ridicat de progesteron din timpul gestației exercită un efect de feedback negativ asupra secreției de GnRH de la nivelul hipotalamusului și reduce frecvența impulsului de LH, generând o stare de anestr fiziologic (Kumar ș.a., 2014).

Cu toate acestea, unele bovine prezintă estru în timpul perioadei de gestație, cunoscut sub numele de estru gestațional, care poate fi observat cel mai adesea în timpul primele patru luni de gestație.

Incidența estrului gestațional a fost înregistrată ca fiind de 3,33 până la 20,3% și de 6,05 până la 14,40% la vacile din India (Luktuke ș.a., 1964; Chauhan ș.a., 1976; Kaikini ș.a., 1984).

Apariția estrului gestațional este înregistrată o singură dată în decursul acestei perioade, foarte puține vaci prezentând de două sau mai multe ori semne estrale în timpul aceleiași gestații (Kumar ș.a., 2014).

Anestrul lactațional

Deși raportările despre anestrul lactațional sunt puține, s-a observat că lactația avansată suprimă fertilitatea la aproape toate mamiferele (Warnick ș.a., 1950; Baker ș.a., 1953).

Apariția acestui tip de anestr este explicat de Kumar ș.a. în cadrul unui studiu realizat în 2014, prin faptul că nivelurile crescute de prolactină identificate la vacile cu producții mari de lapte, suprimă secreția hipotalamică de GnRH și în cele din urmă, reducerea producției de gonadotrofine hipofizare.

Anestrul postpartum fiziologic

După producerea parturii, toate femelele trec printr-o perioadă variabilă dar scurtă de anestr, cunoscută sub numele de anestr postpartum fiziologic.

Cea mai mare parte a vacilor de lapte își reiau ciclicitatea ovariană în decursul primelor 15 - 45 de zile de la momentul parturii (Butler ș.a., 1989; Forde ș.a., 2011), o perioadă mai lungă de anestr postpartum fiind determinată de secreția scăzută de hormoni luteinizanți în această perioadă (Perera ș.a., 2011).

Potrivit lui Kumar ș.a. (2014), anestrul postpartum fiziologic nu poate fi evitat, având în vedere că în această perioadă au loc involuția uterină și o altă serie de procese care pregătesc organismul pentru stabilirea unei noi gestații.

2.2.2. Formele patologice de anestru

Vacile cu producții mari de lapte au în mod inerent semne estrale slab exprimate (Lucy, 2007), în special în perioada postpartumului timpuriu (Harrison ș.a., 1990).

Din punct de vedere clinic, anestruul patologic a fost clasificat în două categorii: anestruul anovulator (anestruul de tip I, anestruul de tip II, anestruul de tip III) și anestruul ovulator (subestruul, estrul neobservat, corpul luteal persistent) (Kumar ș.a., 2014), ce vor fi detaliate în acest subcapitol.

Anestruul de tip I (Hipotrofia ovariană)

La tipul I de anestru, există o creștere foliculară până la stadiul de urgență, fără atingerea stadiului de deviere sau stabilirea unui folicul dominant. Fiziopatologia acestei condiții nu este înțeleasă pe deplin, dar se presupune că este determinată de o subnutriție extremă (Peter ș.a., 2009).

În acest sens, subnutriția și deficitul energetic sever pot provoca această stare din cauza unei lipse esențiale de LH pentru a susține creșterea și dominanța foliculară (Jolly ș.a., 1995).

Ovarele asociate cu acest tip de anestru sunt descrise în literatura de specialitate ca "ovare inactive" (Fielden ș.a., 1980), iar diagnosticul se stabilește după două examinări ecografice ale ovarelor, la aproximativ șapte zile distanță una față de cealaltă.

Diagnosticul de hipotrofie ovariană se stabilește în cazul în care în urma celor două examinări nu s-au evidențiat modificări substanțiale ale structurilor foliculare, însoțite de absența caracteristică a corpului luteal sau a structurilor foliculare chistice (Markusfeld, 1987).

Acest tip de anestru este foarte rar întâlnit și numai 0,003% din cazuri au fost raportate de Wiltbank ș.a. (2002). Cu toate acestea, această condiție se așteaptă să apară la aproximativ 10% din vacile de lapte în perioada postpartum (Markusfeld, 1987).

Pe baza studiilor *in-vitro*, diverși factori de creștere ai peptidelor și citokinelor au fost implicați ca fiind regulatori pozitivi și negativi ai creșterii foliculare la această etapă (Kezele ș.a., 2002; Fortune, 2003; McLaughlin ș.a., 2009).

În ceea ce privește efectul pe care bilanțul energetic negativ îl are asupra reluării activității foliculare în perioada postpartumului timpuriu, Roche ș.a. au afirmat într-un studiu realizat în anul 2001, că reducerea frecvenței impulsului de LH poate fi rezultatul creșterii efectului de feedback negativ al estradiolului asupra frecvenței impulsului de LH.

Acest lucru poate apărea din cauza disponibilității crescute ai receptorilor de estradiol de la nivelul hipotalamusului la efectul de feedback negativ al estradiolului, precum și a altor factori (Sheldon ș.a., 2002). În plus, pot exista suprimări ale impulsurilor de GnRH și se poate presupune că există o activitate neuronală scăzută a GnRH-ului (similar anestruului postpartum) (Peter ș.a., 2009).

Anestrul de tip II

La acest tip de anestru, animalele prezintă valuri foliculare normale cu atingerea stadiului de emergență, dar numai până la stadiul de deviere sau stadiul preovulator (încă nu a dobândit mărimea unui folicul care poate ovula) urmând regresia și apariția unor noi valuri foliculare 2 - 3 zile mai târziu (Roche ș.a., 1998, Wiltbank ș.a., 2002, Peter ș.a., 2009, Ghuman ș.a., 2010).

O frecvență adecvată a impulsului de LH este necesară pentru creșterea și dezvoltarea foliculului după apariția unui val folicular, apariția acestei condiții fiind cauzată de o frecvență scăzută a impulsului de LH ($<1/3$ - 4 ore) (Kumar ș.a., 2014).

Acest tip de anestru este cel mai frecvent întâlnit, creșterea și regresia foliculară repetându-se din nou și din nou. La vacile diagnosticate cu acest tip de anestru, ovarele sunt mici, cu absența unui corp luteal sau ai foliculilor preovulatori (Kumar ș.a., 2014).

În anumite cazuri, regresia sau atrezia are loc numai după ce foliculul a atins stadiul de dominanță (Peter ș.a., 2009). Astfel, există mai multe valuri foliculare secvențiale înainte de prima ovulație, care poate fi amânată pentru o perioadă prelungită de timp.

Valurile foliculare ulterioare apar în decurs de una până la două zile după regresia foliculului, putând exista până la nouă valuri de creștere foliculară înainte de apariția primei ovulații (McDougall ș.a., 1995).

Anestrul de tip III (Boala chistică ovariană)

La anestrul de tip III, are loc creșterea foliculară cu atingerea stadiilor de deviere, creștere și stabilirea unui folicul dominant, dar fără ovulație, determinând formarea unei structuri foliculare persistente (Peter ș.a., 2009).

Structurile foliculare persistente se pot concretiza fie prin apariția chisturilor foliculare, fie ale celor luteinice. Chisturile foliculare sunt structuri cu pereți subțiri, fără luteinizarea celulelor granuloase (niveluri de progesteron <1 ng/ml) și sunt caracterizate prin nimfomanie.

Chisturile luteinice sunt structuri cu pereți groși, cu luteinizarea parțială a celulelor granuloase și se caracterizează prin anestru. Acest tip de anestru este marcat de absența sau atenuarea valului de LH (Peter ș.a., 2004).

Chisturile luteinice apar în 10% până la 13% din cazuri (Peter ș.a., 2004), iar cele foliculare pot regresa sau persista ca structuri anovulatorii (Peter ș.a., 2009).

Această condiție anovulatorie apare din cauza lipsei de sensibilitate a hipotalamusului la feedback-ul pozitiv al estradiolului (Garverick, 2007) și a eșecului de eliberare a GnRH-ului (Vanholder ș.a., 2005).

Alte cauze probabile de apariție a chisturilor sunt reprezentate de apariția valului de LH la momentul nepotrivit (când foliculul nu este capabil să ovuleze) (Vanholder ș.a., 2005) sau de o populație redusă de receptori de LH pe folicul (Kawate ș.a., 2004).

În funcție de statusul său structural/funcțional, această structură anovulatorie poate sau nu să suprimă apariția unui val folicular ulterior pentru un interval de timp variabil (Sakaguchi ș.a., 2006). Incidența raportată de Peter ș.a. (2004) a chisturilor foliculare și luteale la vaci a fost de 10 - 13%, fiind mai puțin întâlnite la junincile de lapte și la vacile de carne.

Anestrul de tip IV (Corpul luteal persistent)

Tipul IV de anestrul este cauzat de prelungirea fazei luteale. Aceste vaci au semne estrale normale, ovulație și formarea de corp luteal, evenimente urmate de prelungirea funcției luteale, din cauza unei lipse de regresie luteală (Peter ș.a., 2009). Un factor care contribuie la persistența corpului luteal poate fi lipsa unui folicul dominant la momentul așteptat al regresiei luteale (Wiltbank ș.a., 2002).

În acest sens, estradiolul dintr-un folicul dominant se crede că induce formarea unor receptori uterini de oxitocină, determinând eliberarea pulsatilă de PGF2 α pentru inducerea luteolizei (Thatcher ș.a., 1989; McCracken ș.a., 1999).

Mulți factori au fost sugerați pentru creșterea riscului de prelungire a fazei luteale (Opsomer ș.a., 2000), incluzând paritatea, distocia, afecțiunile din prima lună de lactație, stresul caloric și probabil ovulația imediat după parturiție. De asemenea, corpul luteal persistent este asociat cu patologii uterine (Mateus ș.a., 2002) sau piometrul, care pot prelungi evoluția corpului luteal (Sheldon ș.a., 2006).

Persistența corpului luteal mai poate fi asociată cu resorbția fetală, macerația, mumificația (Noakes ș.a., 1990) dar și cu mortalitatea embrionară, când moartea embrionului survine după recunoașterea maternă a gestației, iar corpul luteal persistă până la resorbția embrionului (Kumar ș.a., 2014).

Estrul neobservat sau Estrul liniștit

Estrul neobservat este adesea un factor major ce contribuie la creșterea incidenței anestrului, deoarece multe dintre vacile considerate ca având anestrul, ar putea fi de fapt animale cu ciclicitate normală, dar nu au fost observate ca fiind în estru (Ambrose ș.a., 2014). Astfel, vacile au fost împărțite în două categorii:

Sub-estrul (ovulația liniștită)

- este caracterizat clinic prin semne comportamentale estrale slab manifestate (durată scurtă a estrului, estru de intensitate scăzută) și astfel, animalele sunt ratate la controalele de rutină de depistare a ciclurilor de călduri (Ambrose ș.a., 2014). În cazul sub-estrului, dezvoltarea foliculară și ovulația decurg normal, dar fără manifestarea evidentă a semnelor estrale (Kumar ș.a., 2014).

Sub-estrul este frecvent întâlnit la vițele în timpul perioadei post pubertale și în postpartumul timpuriu (30 - 120 zile), la vacile cu producții mari de lapte (Kumar ș.a., 2014).

Printre cauzele sub-estruului sunt menționate: stresul caloric, deficiențele nutriționale, excesul de greutate, leziunile membrelor, vârsta înaintată și ergotismul (Kumar ș.a., 2014).

Estrul liniștit

- este caracterizat prin lipsa semnelor comportamentale evidente de călduri (Ambrose ș.a., 2014), detecția acestuia fiind un aspect critic al managementului efectivelor de lapte unde se practică inseminarea artificială (Kumar ș.a., 2014).

Atât vacile cu sub-estru, cât și cele cu estru liniștit pot ovula spontan și pot dezvolta un corp luteal, dar pentru ca nu sunt observate în estru, sunt fals diagnosticate cu anestru (Kumar ș.a., 2014).

După parturiție, prima ovulație este rar precedată de un comportament estral evident, numai 10 - 13% dintre vacile de lapte manifestând semnele estrale specifice (Kyle ș.a., 1992; Sakaguchi, 2010), urmând ca la al doilea și al treilea ciclu de călduri această proporție să crească (Ambrose ș.a., 2014).

Nivelul producției de lapte poate influența de asemenea proporția vacilor detectate în estru la prima ovulație (Morrow ș.a., 1966; Kyle ș.a., 1992; Sakaguchi, 2010), cu o proporție mai mare de vaci cu producții scăzute de lapte detectate în estru la prima ovulație (Ambrose ș.a., 2014).

Intensitatea semnelor comportamentale ale estrului este determinată de concentrația de estrogen, scăzută în cazul vacilor cu producții mari de lapte (Lopez ș.a., 2004). Aceste concentrații scăzute de estrogen pot fi cauzate de metabolismul accelerat și de clearance-ul cu o încărcătură metabolică ridicată (Sangsritavong ș.a., 2002) sau de o creștere foliculară sub-optimală (Awasthi ș.a., 2007), inhibând astfel exprimarea estrului la vacile cu producții mari de lapte.

Potrivit numeroaselor studii realizate, vacile care își reiau ciclicitatea ovariană mai devreme în perioada postpartum, au performanțe reproductive mai bune (Thatcher ș.a., 1973; Jolly ș.a., 1995; Darwash ș.a., 1997; Kawashima ș.a., 2006; Kim ș.a., 2012). Astfel, devine foarte important să se evalueze periodic, la intervale regulate, statusul ovarian al vacilor aflate în perioada postpartum, pentru a diferenția vacile cu anestru cauzat de estrul neobservat de cele cu anestru adevărat (Ambrose ș.a., 2014).

Realizarea mai frecventă a unor controale vizuale de detecție a semnelor estrale și observarea semnelor estrale secundare, vor crește probabilitatea de detecție a estrului în cazul vacilor cu sub-estru și estru de detecție (Ambrose ș.a., 2014).

2.2.3. Diagnosticul, terapia și prevenirea sindromului de anestru la vacile de lapte

Diagnosticul sindromului de anestru la vacile de lapte se stabilește pe baza anamnezei, examinărilor clinice generale, ginecologice (palparea transrectală a ovarelor și a tractului genital), completate cu vaginoscopia atunci când situația impune și alte metode de diagnostic (Madhuri ș.a., 2017).

Patologiile ovariene care nu pot fi determinate cu exactitate cu ajutorul examinării transrectale, pot fi vizualizate cu ajutorul ecografiei. De asemenea, tot cu

ajutorul acesteia, pot fi stabilite diferitele etape de dezvoltare foliculară sau se pot diagnostica cele patru tipuri de anestrul (Kumar ș.a., 2014).

Examinarea transrectală ca măsură de diagnostic are limitările sale și poate duce la stabilirea unor diagnostice false, conducând astfel la administrarea inadecvată de produse hormonale (Peter ș.a., 2009).

Diagnosticul anestrului bazat pe ecografia ovariană trebuie să implice cel puțin două examinări consecutive realizate la un interval de 7 -14 zile distanță una față de cealaltă (Yilmazbas-Mecitoglu ș.a., 2012), deși, chiar și o singură examinare are o valoare de diagnostic destul de bună (Stevenson ș.a., 2008).

Gestația poate fi o cauză importantă a diagnosticului fals pozitiv de anestrul și prin urmare, trebuie exclusă prezența unei eventuale gestații prin examinarea atentă a ovarelor și a uterului, în momentul realizării examinării ginecologice (Kumar ș.a., 2014).

Pentru anestrul de tip I și II, măsurile de remediere constau în corectarea bilanțului energetic negativ, care este foarte dificil de realizat prin managementul nutrițional. Cu toate acestea, studii recente au indicat faptul că reducerea perioadei de repaus mamar sau eliminarea acesteia (Grummer ș.a., 2007), pot atenua efectele negative ale bilanțului energetic negativ și poate reduce apariția sindromului de anestrul la vacă (Peter ș.a., 2009).

Mai mult decât atât, furajarea cu anumiți acizi grași pe perioada repausului mamar (fără a modifica durata acesteia) poate reduce de asemenea intervalul dintre parturiție și prima ovulație postpartum (Colazo Mș.a., 2007).

De-a lungul timpului, s-a discutat mult despre aceste condiții anovulatorii (anestrul de tip I și II) (Opsomer ș.a., 2000; Rhodes ș.a., 2003; Petersson ș.a., 2008), care au avut prevalențe cuprinse între 11% și 38% în primele 50 - 60 de zile după parturiție (Opsomer ș.a., 2000; Rhodes ș.a., 2003).

Deși ecografia transrectală a fost utilizată pentru evaluarea ovarelor (Stevenson ș.a., 2008), stausul fiziologic și endocrin al structurilor ovariene este cel mai bine determinat prin măsurarea concentrațiilor de progesteron (Silva ș.a., 2007).

Anestrul este de obicei caracterizat prin lipsa producției ovariene de progesteron (Peter ș.a., 2009), iar prezența nivelului bazal de progesteron (0,5 - 1ng/ml) în probele de sânge la un interval de 8 - 10 zile, confirmă diagnosticul de anestrul. O concentrație de progesteron mai mare de 1 ng/ml, este sugestivă pentru prezența unui corp luteal și a anestrului, această situație putând fi cauzată de estrul neobservat, estrul liniștit sau de corpul luteal persistent (Kumar ș.a., 2014).

În ceea ce privește tratamentul anestrului la vacile de lapte, s-a observat că vacile aflate în perioada postpartumului timpuriu sau cele cu rezerve scăzute de grăsime corporală, este puțin probabil să răspundă la tratamentele hormonale.

Deși progestinele exogene sunt considerate cele mai recomandate în terapia anestrului de tip I sau II la vacile de lapte, trebuie avut în vedere faptul că orice metodă hormonală de inducere a ovulației trebuie realizată împreună cu corectarea problemelor de management (Peter ș.a., 2009).

Pre-tratamentul vacilor cu anestru timp de 5 - 9 zile cu progesteron este o condiție necesară pentru exprimarea concomitentă a estrului la prima ovulație.

Cu toate acestea, necesitatea suplimentară de hormoni exogeni pentru a asigura ovulația foliculului dominant, este dependentă de statusul energetic, scorul de condiție corporală și de intervalul postpartum (care reglează frecvența impulsului de LH) (Peter ș.a., 2009).

Vacile diagnosticate cu chisturi ovariene pot fi tratate cu succes cu progesteron, GnRH și PGF2 α , iar ulterior să fie inseminate (Lopez-Gatius ș.a., 2001). Estradiol benzoatul administrat în asociere cu progesteronul, reduce persistența foliculilor dominanți atât la vacile care și-au reluat ciclicitatea ovariană, cât și la cele cu anestru, dar poate întârzia dezvoltarea foliculară ulterioară la unele vaci cu anestru postpartum (Rhodes ș.a., 2002).

Pentru tratarea chisturilor foliculare, agenții care induc eliberarea de LH-ului din hipofiza anterioară (GnRH) sau care au acțiune similară LH-ului, așa cum este gonadotrofină corionică (hCG), pot fi utilizați cu succes (Peter ș.a., 2009).

Indiferent de tipul de agenți utilizați, dacă chisturile devin luteinizate, regresia luteală trebuie indusă cu PGF2 α . O combinație de GnRH și PGF2 α poate fi de asemenea utilizată (ziua 0 GnRH, ziua 7 PGF2 α și ziua 9 GnRH), cu sau fără inseminare artificială temporizată (Bartolome ș.a., 2000; Crane ș.a., 2006).

Pentru chisturile luteale PGF2 α sau analogii săi, reprezintă tratamentul de elecție, inducând regresia chisturilor luteinizate, cu apariția ulterioară a estrului în decursul a 8 zile, în medie la 87% - 96% dintre vacile tratate (Peter ș.a., 2004).

Pentru tipul IV de anestru, PGF2 α este utilizată pentru a produce liza corpului luteal persistent și inițierea unui nou ciclu de călduri. Dacă prezența corpului luteal persistent este cauzată de piometru, tratamentul cu PGF2 α este de asemenea benefic (Farin ș.a., 1993). În anumite cazuri, în funcție de severitatea și cantitatea colecției purulente existente în uter, lavajele uterine și/sau administrarea intrauterină sau sistemică de antibiotice sunt recomandate (Fazeli ș.a., 1980; Etherington ș.a., 1991; Fołdi ș.a., 2006).

Deși multe tratamente hormonale sunt posibile pentru anumite condiții de anestru, aplicarea acestui tip de terapie trebuie să fie abordată cu prudență. Mai mult decât atât, tratamentul hormonal incorect realizat la vacile de lapte, poate transforma o formă de anestru într-o altă formă (Lopez-Gatius ș.a., 2008).

În ceea ce privește utilizarea largă a tratamentelor hormonale pentru tratarea cazurilor de anestru, în loc să se recomande de către medicul veterinar tratarea anestrului cu produse hormonale, ar trebui să se sublinieze rolul predominant pe care îl au factorii de manageriere (detecția semnelor estrale, planul de nutriție atât în perioada repausului mammar cât și în lactația timpurie) și igiena la parturiție, în scopul prevenirii sindromului de anestru la vacile de lapte (Madhuri ș.a., 2017).

Deși performanța reproductivă a vacilor cu producții mari de lapte a fost pusă sub semnul întrebării (Dobson ș.a., 2007), există dovezi că fertilitatea nu este neapărat

afectată la vacile cu producții mari de lapte (Lopez ș.a., 2005; Windig ș.a., 2005), cu condiția ca mediul în care animalele stau să fie favorabil și să susțină în perioada peripartum starea de sănătate a vacii (Windig ș.a., 2005).

Niveluri acceptabile de fertilitate pot fi obținute cu vaci cu un potențial genetic ridicat, cu condiția ca estrul să fie detectat eficient, vacile să ajungă la momentul parturii într-o condiție corporală moderată și să fie furajate în așa manieră încât să se minimizeze pierderi ale scorului corporal după fătare (Mayne. ș.a., 2002).

Funcționarea optimă a funcției de reproducere în perioada postpartum necesită prevenirea bolilor metabolice în perioada peripartum (Ferry, 1997) și aportul rapid și substanțial de substanță uscată după fătare, pentru a satisface cererile mari de nutrienți pentru producția de lapte. Acest proces de adaptare metabolică la vaci în perioada lactației timpurii nu ar trebui împiedicată, deoarece acest lucru poate duce la o funcție reproductivă suboptimală (Jorritsma ș.a., 2003).

Prima acțiune implică prevenirea bilanțului energetic negativ și apariția lipidozei hepatice. Scurtând sau eliminând perioada repausului mamar poate îmbunătăți stausul energetic al vacilor și poate crește eficiența reproductivă (Grummer, 2007).

Excesul de grăsime corporală la fătare reduce apetitul, afectând astfel consumul de energie în perioada postpartumului timpuriu. Lipoliza ulterioară crește concentrațiile plasmatice de acizi grași neesterificați (NEFA), absorbția hepatică de NEFA fiind proporțională cu concentrațiile sanguine de acizi grași.

NEFA de la nivel hepatic pot fi fie oxidați fie esterificați, produsul de esterificare primară fiind trigliceridele, care pot fi exportate ca parte a unei lipoproteine cu densitate foarte scăzută, fie pot fi stocate (Peter ș.a., 2009).

Este posibil ca lipidoza hepatică să nu aibă un efect direct asupra funcției axei hipotalamo-untero-ovariene, dar poate reduce capacitatea funcției imune (Wentink ș.a., 1997), crescând incidența infecțiilor și a bolilor metabolice. Potrivit lui Kaneene ș.a. (1997), o incidență crescută a metritelor a fost observată când mobilizarea grăsimilor a fost pronunțată.

În ceea ce privește controversa dintre producția de lapte și fertilitatea vacilor de lapte, este demn de notat că producția crescută de lapte nu are un efect negativ asupra fertilității, atâta timp cât cantitatea de triglicelol de la nivel hepatic rămâne constantă (Jorritsma ș.a., 2003). Potrivit lui Butler ș.a. (2008), vacile aflate în perioada postpartum care au foliculi dominanți ovulatori, au concentrații plasmatice de NEFA mai scăzute, comparativ cu cele care au foliculi dominanți neovulatori.

Astfel, pentru prevenirea sindromului de anestrul la vacile pentru lapte, important este să se acorde atenție stresului termic (Roth ș.a., 2001), factorilor de management (Butler, 2000), vacilor cu puerperium anormal (Kruip ș.a., 2001), bolilor metabolice (Ferry, 1997), aportului de furaj (McDougall ș.a., 1995), restricțiilor nutriționale (McDougall ș.a., 1995) și nu în ultimul rând, afecțiunilor uterine (retenții ale anexelor fetale, metrite, endometrite) (Mateus ș.a., 2002).

PARTEA A II-A - CERCETĂRI PROPRII
PART II - PERSONAL CONTRIBUTION

CAPITOLUL III. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE TEZEI

CHAPTER III. PHD THESIS AIM AND OBJECTIVES

Deși a fost și este intens studiată tema sindromului de anestru la vacă, aceasta reprezintă încă o preocupare pentru medicii veterinari și fermieri, atât din cauza pierderilor din punct de vedere reproductiv, cât și din punct de vedere al implicațiilor economice negative.

În termeni largi, sindromul de anestru la vacă poate fi definit ca lipsa semnelor estrale, iar vârsta animalului, numărul lactației, patologiile din perioada postpartum, factorii de mediu stresanți, sezonul, tulburările metabolice, dar și o proastă detecție a semnelor estrale, sunt factori care duc la creșterea incidenței sindromului de anestru în efectivele de bovine.

La nivel mondial, sindromul de anestru la vacile de lapte a fost abordat în cadrul numeroaselor studii publicate de-a lungul anilor, însă în ciuda progreselor realizate în acest sens, fertilitatea vacilor producătoare de lapte încă are de suferit. Putem afirma astfel, că acest sindrom polifactorial reprezintă în continuare o problemă pentru crescătorii de bovine.

La nivel național, această temă a fost de asemenea intens studiată de-a lungul ultimilor ani și deși au fost recomandate o serie de scheme de tratamente, acest sindrom polifactorial rămâne încă o preocupare atât pentru medicii veterinari, cât și pentru cercetătorii din acest domeniu.

Scopul acestui studiu a fost de a aduce noi informații în ceea ce privește evoluția sindromului de anestru la vacile de lapte atât din regiunea de Nord-Est a Moldovei, cât și din zona de Est a Belgiei.

De asemenea, s-a urmărit oferirea de noi soluții pentru a optimiza procesele reproductive din fermele de vaci, prevenind astfel pierderile economice cauzate de nerealizarea targetului stabilit de către fermieri.

În acest sens, a fost dezvoltată o aplicație de smartphone, cu sistem de operare Android, ce permite medicilor veterinari să evalueze rapid starea de sănătate a vacilor și să eficientizeze gestionarea din punct de vedere reproductiv, a efectivului de animale urmărit.

Stabilirea temei de cercetare pentru această teză de doctorat s-a realizat ca urmare a necesității de a se aduce noi date cu privire la factorii favorizanți și determinanți în apariția sindromului de anestru la vacile de lapte.

De asemenea, găsirea unor metode moderne de optimizare a procesului reproductiv în fermele de vaci, ca măsuri profilactice de prevenire a sindromului de

anestru, dar și de noi metode de a preveni stabilirea de diagnostice fals pozitive de anestru la vaci cu anestru de detecție, au reprezentat dezideratele noastre.

Principalele obiective ale acestei teze au fost:

- stabilirea prevalenței ovaripatiilor la vacile de lapte și influența tratamentelor hormonale asupra perioadei de reproducere;
- izolarea și identificarea cu ajutorul examenelor microbiologice a tulpinilor bacteriene implicate în afecțiunile uterine ce reprezintă factori de infecundiate la vacile de lapte;
- stabilirea sensibilității la antibiotice a tulpinilor bacteriene implicate în afecțiunile uterine utilizând metoda antibiogramei difuzimetrice;
- caracterizarea substratului molecular al fenotipului ESBL (enzime betalactamază cu spectru extins) identificat la tulpinile de *Escherichia coli* izolate din probele recoltate de la vacile cu endometrite clinice;
- stabilirea cu ajutorul metodelor complementare (examinare ecografică) a diagnosticelor afecțiunilor utero-ovariene la vacile de lapte;
- stabilirea eficacității unor tratamente hormonale aplicate la vacile de lapte diagnosticate cu anestru postpartum;
- identificarea de corelații între afecțiunile din perioada postpartum și influența acestor patologii asupra performanței reproductive la vacile de lapte;
- realizarea unei analize din punct de vedere economic cu privire la pierderile produse de vacile diagnosticate cu sindromul de anestru;
- realizarea unei aplicații de smartphone de monitorizare și manageriere a activității reproductive în fermele de vaci, cu scopul de a eficientiza procesul de reproducere.

CAPITOLUL IV. CERCETĂRI PRIVIND DETERMINAREA PREVALENȚEI OVARIIPATIILOR ȘI INFLUENȚA TRATAMENTELOR HORMONALE ASUPRA PERIOADEI DE REPRODUCERE, LA VACILE DE LAPTE

CHAPTER IV. RESEARCH REGARDING PREVALENCE OF OVARIAN DISEASES AND HORMONAL TREATMENT INFLUENCE ON REPRODUCTIVE PERIOD IN DAIRY CATTLE

Reluarea activității ovariene în perioada postpartum reprezintă un deziderat pentru o exploatare eficientă a efectivelor de vaci, având o importanță deosebită din punct de vedere reproductiv. Prelungirea perioadei de așteptare peste 60 de zile de la momentul parturii atrage atenția asupra existenței anumitor afecțiuni ce pot avea consecințe nefaste atât din punct de vedere reproductiv, cât și economic.

Acest capitol va constitui un punct de plecare pentru studiul nostru și va cuprinde două studii retrospective cu privire la prevalența afecțiunilor ovariene ce constituie factori de infecunditate la vacile de lapte, dar și la modul cum administrarea tratamentelor hormonale influențează perioada de reproducere la vacile de lapte.

4.1. Material și metodă

4.1.1. Studiu privind determinarea prevalenței ovaripatiilor la vacile de lapte

Primul studiu retrospectiv din acest capitol, face referire la prevalența ovaripatiilor la vacile de lapte și a fost realizat pe un număr total de 834 de vaci din rasa Bălțată cu Negru Românească. Datele au provenit de la o fermă specializată în producția de lapte din Nord-Estul României și au cuprins o perioadă de patru ani consecutivi (2010-2013).

Sistemul de întreținere al animalelor pentru primii doi ani a fost în stabulație liberă pe timpul verii și stabulație legată pentru perioada rece a anului. În perioada 2012-2013 sistemul de întreținere al vacilor s-a modificat datorită lucrărilor de modernizare a fermei, într-un sistem de întreținere liberă în adăpost, pe toată perioada anului.

Pentru cei patru ani consecutivi luați în studiu, furajarea vacilor de lapte s-a realizat cu amestec furajer unic, iar mulsul s-a realizat automat, în săli de tip paralelă 2 x 12, de două ori pe zi, dimineața și seara.

Datele cu privire la animalele luate în studiu au fost preluate din fișele ginecologice ale fermei, cu scopul de a se determina prevalența (analiză statistică care se referă la numărul total de cazuri într-o populație dată, într-o anumită unitate de timp) celor trei tipuri de ovaripatii care sunt considerate factori de infertilitate.

4.1.2. Studiul privind efectul tratamentelor hormonale asupra perioadei de reproducere, la vacile de lapte

Cel de-al doilea studiu retrospectiv din cadrul acestui capitol, ce face referire la efectul tratamentelor hormonale asupra perioadei de reproducere, la vacile de lapte, a fost realizat în mod similar studiului anterior.

Acesta a fost realizat pe același efectiv de animale, cu scopul de a determina efectul tratamentelor hormonale asupra perioadei de reproducere, la vacile de lapte diagnosticate cu cele trei tipuri de ovaripatii studiate de noi, comparativ cu cele care și-au reluat ciclicitatea ovariană în decursul primelor 60 de zile postpartum.

Perioada de reproducere a fost definită de Hanzen (2015), ca fiind intervalul de timp cuprins între prima inseminare artificială și inseminarea artificială fecundă.

Datele cu privire la animalele luate în studiu au provenit de la 321 de animale diagnosticate cu anestrul postpartum (corp luteal persistent, boala chistică ovariană, inactivitate ovariană). Tratarea vacilor diagnosticate cu cele trei patologii amintite anterior s-a realizat cu produse hormonale pe bază de GnRH (Receptal, în doze de 2,5 - 5 ml) și PGF2 α (Estrumate, în doză de 2 ml).

Pe baza datelor obținute din registrul oficial al fermei, au fost analizați următorii parametri reproductivi: intervalul parturiției - prima inseminare artificială (P-1IA), perioada de reproducere (PR), numărul mediu de inseminări pentru obținerea unei gestații (IA/G), rata de concepție (Rc%) service periodul (SP) și calving intervalul (CI).

4.2. Rezultate și discuții

4.2.1. Rezultate și discuții cu privire la studiul retrospectiv privind determinarea prevalenței ovaripatiilor la vacile de lapte

Analiza datelor înregistrate a indicat faptul că din totalul vacilor monitorizate, 38,49% au prezentat afecțiuni ovariene care au evoluat cu anestrul patologic.

Astfel, 18,70% din totalul animalelor luate în studiu au fost diagnosticate cu corp luteal persistent, patologie urmată de hipotrofia ovariană (11,03%) și boala chistică ovariană, într-o proporție de 8,75% (tabelul 4.1.).

În ceea ce privește repartitia afecțiunilor ovariene înregistrate pe perioada celor 4 ani luați în studiu, prevalența acestora a păstrat procente relativ apropiate. Astfel, din totalul de 321 de cazuri de ovaripatii înregistrate în perioada 2010 - 2013, în anul 2010 prevalența a înregistrat o valoare de 30,22%, urmată de valori similare în 2011 (24,92%) și 2013 (24,30%), cea mai scăzută prevalență fiind înregistrată în anul 2012, cu o valoare de 20,56% (fig. 4.1.).

Tabelul 4.1. Prevalența afecțiunilor ovariene raportate la numărul total de animale luate în studiu (2010 - 2013)

Table 4.1. Prevalence of ovarian disorders related to the total number of animals taken under study (2010 – 2013)

2010 - 2013		Total afecțiuni ovariene		Boala chistică ovariană		Hipotrofie ovariană		Corp luteal persistent	
Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
834	100	321	38,49	73	8,75	92	11,03	156	18,70

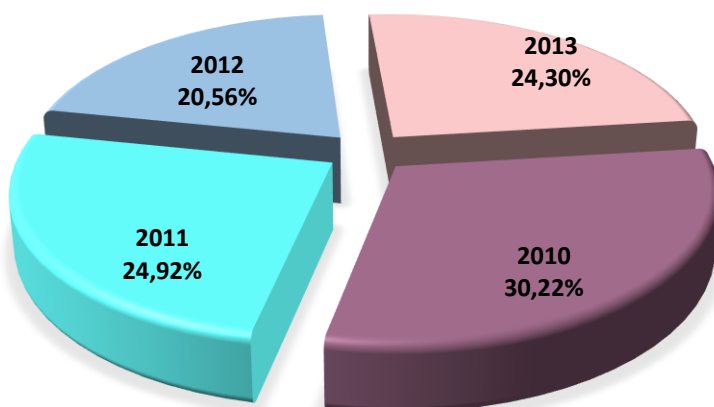


Fig. 4.1. Prevalența afecțiunilor ovariene înregistrate în perioada 2010 – 2013 la vacile de lapte

Fig. 4.1. The prevalence of ovarian disorders during 2010 – 2013 in dairy cattle

Analizând datele înregistrate cu privire la apariția ovaripatiilor în funcție de sezonul de fătare, s-a observat că în decursul celor patru ani, presistența corpului luteal a înregistrat două niveluri maxime, în anotimpul de iarnă (29,49% din totalul de 321 de ovaripatii) și în cel de primăvară (32,69%), cea mai scăzută prevalență a acestei ovaripatii fiind înregistrată la vacile care au fătat în timpul sezonului de vară (17,31%) (tabelul 4.2.).

Tabelul 4.2. Prevalența ovaripatiilor în funcție de sezonul de parturiție în perioada 2010 - 2013 la vacile de lapte

Table 4.2. The prevalence of ovarian disorders according to calving season during 2010 - 2013 in dairy cattle

Sezonul	Corp luteal persistent		Boala chistică ovariană		Hipotrofie ovariană	
	Număr	%	Număr	%	Număr	%
Primăvară	51	32,69	26	35,62	12	13,04
Vară	27	17,31	19	26,03	25	27,17
Toamna	32	20,51	14	19,18	25	27,17
Iarna	46	29,49	14	19,18	30	32,61

Din totalul afecțiunilor ovariene înregistrate pe perioada celor 4 ani luați în studiu, prevalența bolii chistice ovariene a prezentat variații cuprinse între o valoare minimă pentru vacile care au fătat în timpul sezoanelor de toamnă - iarnă (19,18%) și o valoare maximă pentru cele la care parturiția s-a produs în timpul anotimpului de primăvară (35,62%).

Pentru animalele la care parturiția a avut loc în perioada anotimpului de vară, prevalența bolii chistice ovariene a înregistrat o valoare de 26,03% (tabelul 4.2.). Spre deosebire de studiul nostru la care prevalența bolii chistice ovariene la vacile care au fătat toamna a fost relativ mică, Nelson ș.a. (2010) au arătat că animalele la care s-au înregistrat parturiții în decursul acestui anotimp, au prezentat riscuri mai mari de apariție a acestei ovaripatii.

De asemenea, Lopez-Gatius ș.a. au evidențiat în cadrul unui studiu realizat în Nord-Estul Spaniei anul 2002, că vacile care au fătat în anotimpul de vară sunt de 2,6 ori mai susceptibile să dezvolte boala chistică ovariană, spre deosebire de cele la care parturiția s-a produs iarna, această diferență fiind atribuită stresului termic.

În ceea ce privește prevalența hipotrofiei ovariene, cel mai mare procent a fost înregistrat tot la animalele la care parturiția a avut loc în anotimpul de iarnă (32,61%), o valoare egală de 27,17% a fost înregistrată pentru perioada vară-toamnă, cele mai scăzute valori ale acestei afecțiuni ovariene fiind înregistrate la vacile care au fătat în anotimpul de primăvară (13,04%) (tabelul 4.2.).

Prevalența crescută a hipotrofiei ovariene în perioada rece a anului este susținută de Berger ș.a. (1986) și de Zdunczyk ș.a. (1992), care susțin că valori crescute ale acestei afecțiuni înregistrate în timpul sezonului rece al anului, este dependentă de furajarea de pe timpul iernii (din cauza proporțiilor crescute de furaj însilozat).

În sens invers, în cadrul unui studiu realizat de Yániz ș.a. în anul 2008, aceștia au demonstrat faptul că inactivitatea ovariană are o distribuție sezonieră clară, cu o frecvență maximă în timpul sezonului cald (mai - septembrie).

În ceea ce privește prevalența celor trei ovaripatii menționate anterior în funcție de numărul lactației, dintre toate cazurile înregistrate de corp luteal persistent în cadrul acestui studiu, cea mai crescută prevalență a acestei afecțiuni a fost înregistrată la prima lactație (45,5%). De la a doua lactație (28,2%), s-a observat că prevalența a avut un trend descendent, atingând o prevalență de 15,4% la a III-a lactație și o valoare minimă de 1.3% la cea de-a V-a lactație.

Tabelul 4.3. Prevalența afecțiunilor ovariene studiate în funcție de numărul lactației în perioada 2010 - 2013 la vacile de lapte

Table 4.3. The prevalence of studied ovarian disorders according to lactation number during 2010 - 2013 in dairy cattle

Numărul lactației	Corp luteal persistent		Boala chistică ovariană		Hipotrofie ovariană	
	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
I lactație	71	45,5	33	45,2	45	48,9
Lactația a II-a	44	28,2	21	28,8	31	33,7
Lactația a III-a	24	15,4	10	13,7	6	6,5
Lactația a IV-a	14	9	5	6,8	7	7,6
Lactația a V-a	1	0,6	1	1,4	2	2,2
Peste lactația a V-a	2	1,3	3	4,1	1	1,1

Prevalența crescută a corpului luteal persistent la vacile aflate în cursul primei lactații poate fi pusă pe seama prelungirii perioadei de involuție uterină (subinvoluție uterină), ceea ce face ca secreția hormonului luteolitic ($\text{PGF}_{2\alpha}$) să fie redusă, în detrimentul PGE, care are rol luteinizant.

Potrivit lui Mateus ș.a. (2002), pe lângă secreția scăzută de $\text{PGF}_{2\alpha}$ la nivel uterin, secreția inflamatorie mediată de PGE, care are rol luteotrop, ar putea fi responsabilă pentru funcția luteală prelungită. Tot Mateus ș.a. (2002), au demonstrat că endometrita determină o creștere a concentrației de PGE la nivelul conținutului uterin al vacilor, iar celulele epiteliale endometriale expuse la endotoxinele prezente, sunt supuse unui comutator endocrin de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ (luteolitic) la PGE (luteotrop) (Herath ș.a., 2009).

Concentrațiile crescute de PGE de la nivelul conținutului uterin, produce persistența luteală la vaci (Thibodeaux ș.a., 1992), sugerând faptul că la femelele cu metrită, acest tip de prostaglandină joacă un rol local în patogeneza persistenței corpului luteal.

În raport cu numărul lactației, din totalul afecțiunilor ovariene înregistrate pe perioada 2010 - 2013, prevalența bolii chistice ovariene a înregistrat un nivel maxim la prima lactație (45,21%), o scădere moderată până la cea de-a III-a, iar începând cu lactația a IV-a, prevalența a scăzut semnificativ, înregistrând valori de 1,4% la lactația

a V-a și valori de 4,1%, la vacile aflate la mai mult de cinci lactații (tabel 4.3.).

Rezultate similare în ceea ce privește prevalența crescută a bolii chistice ovariene, la prima lactație au fost raportate și de Ruginosu ș.a., în cadrul unui studiu realizat în anul 1999.

În cadrul a două studii realizate de Fleischer ș.a. (2001) și Brito ș.a. (2004), s-a menționat despre corelația bine cunoscută dintre producția ridicată de lapte și frecvența crescută a bolii chistice ovariene la vaci. De asemenea, s-a menționat că vacile selectate genetic pentru producția de lapte vor avea mai multe șanse de a dezvolta chiști ovarieni mai frecvent în timpul vieții lor.

Cercetătorii au emis ipoteza că o posibilă explicație pentru corelația directă dintre producția crescută de lapte și creșterea incidenței bolii chistice ovariene este faptul că vacile aflate în lactație timpurie care încearcă să îndeplinească cerințele crescute pentru producția de lapte, sunt mult mai sensibile la schimbările de mediu, având ca rezultat, modificări hormonale (Hooijer ș.a., 2001).

În ceea ce privește prevalența hipotrofiei ovariene în raport cu numărul lactației pentru perioada luată în studiu, aceasta a prezentat o valoare maximă în cursul primei lactații (48,91%), urmată de o scădere evidentă până la valoarea de 33,70%, pentru cea de-a II-a lactație.

În cursul celei de-a III-a și celei de-a IV-a lactație prevalența inactivității ovariene a continuat să scadă până la valori cuprinse între 6,52% și 7,61%, pentru a atinge cea mai scăzută valoare la a V-a lactație și după aceasta (2,20% și 1,10%) (tabel 4.3.).

Ca o posibilă explicație pentru prevalența crescută a hipotrofiei ovariene la prima lactație poate fi menționată competiția pentru spațiu și statutul ierarhic în cardul efectivelor, care poate influența negativ capacitatea femelei de a consuma furaj, putând predispuce ulterior vacile la dezvoltarea unor afecțiuni uterine și ovariene (Huzzey ș.a., 2007).

4.2.2. Rezultate și discuții privind efectul tratamentelor hormonale asupra perioadei de reproducere, la vacile de lapte

Analiza datelor înregistrate în cadrul acestui studiu arată unele diferențe între vacile diagnosticate cu ovaripatii și la care s-au administrat tratamente hormonale și cele care și-au reluat ciclicitatea ovariană în primele 60 de zile postpartum.

Astfel, pentru perioada luată în studiu, vacile diagnosticate cu corp luteal perisistent și tratate cu produse hormonale, au prezentat un interval mediu parturiție - prima inseminare artificială (P-11A) de 107,9 zile (tabelul 4.4.), comparativ cu media aceluiași parametru urmărit la vacile care și-au reluat activitatea ovariană în mod fiziologic (50,8 zile) (tabelul 4.5.).

Tabelul 4.4. Media indicilor reproductivi la vacile diagnosticate cu persistența corpului luteal și tratate cu produse hormonale, în perioada 2010 – 2013

Table 4.4. Reproductive indices mean in cattle with persistent corpus luteum, treated with hormonal products during 2010 – 2013

Anul de studiu	P-1IA (Zile)	PR (Zile)	IA/G (Nr.)	Rc %	SP (Zile)	CI (Zile)
2010	128,3	90	3,6	27,7	218,3	500
2011	99,9	43,4	2,61	52,3	143,4	425,6
2012	101,6	52,6	2,86	48,3	154,3	436,6
2013	102	20,3	1,7	63,1	122,4	406,4
Media	107,9	51,6	2,7	47,8	159,6	442,1

Legendă: (P-1IA) - intervalul de la parturiție la prima inseminare artificială; (PR) - perioada de reproducere; (IA/G) - numărul mediu de inseminări pentru obținerea unei gestații; (Rc%) - rata de concepție; (SP) - service period; (CI) - calving interval.

Prelungirea fazei luteale evidențiată în cadrul studiului nostru, este susținută și de Pineda ș.a. (2003), care au afirmat că această patologie reprezintă anestrul tipic cauzat de persistența corpului luteal și este caracterizat de o lipsă de regresie luteală. De asemenea, El-Desouky ș.a. (2015), afirmă că persistența corpului luteal în perioada postpartum la vacile de lapte, apare de obicei în asociere cu anumite afecțiuni uterine, așa cum sunt mortalitatea fetală, piometrul, mamita sau bilanțul energetic negativ.

Pentru cei patru ani incluși în studiu, perioada de reproducere la vacile care au prezentat corp luteal persistent a înregistrat un interval mediu de 51,6 zile (tabel 4.4.), comparativ cu vacile sănătoase, care au înregistrat un interval mediu de 18,7 zile (tabelul 4.5.).

O prelungire a perioadei de reproducere poate fi cauzată de mai mulți factori, cum ar fi: endometritele subclinice, o calitate slabă a ovocitului recutat, prezența mamitelor, metoda folosită de către operator pentru realizarea inseminării artificiale, sau detectarea necorespunzătoare a vacilor cu semne estrale.

Alți factori care pot duce la o perioadă de reproducere prelungită sunt reprezentați de o incorectă gestionare a materialului seminal (ambalare, conservare și decongelare), calitatea inseminării artificiale (momentul în care se realizează inseminarea, igiena inseminării și locul de depunere a materialului seminal), precum și diverși factori de stres, cum ar fi cei de mediu sau de management.

Tabelul 4.5. Parametrii reproductivi la vacile care și-au reluat ciclicitatea ovariană în decursul primelor 60 de zile postpartum, în perioada 2010 – 2013

Table 4.5. Reproductive parameters in cattle which resumed their ovarian cyclicity within 60 days postpartum, during 2010 – 2013

Anul de studiu	P-1IA (Zile)	PR (Zile)	IA/G (Nr.)	Rc %	SP (Zile)	CI (Zile)
2010	49,8	16	1,6	75	65,8	347,7
2011	51,7	17,5	1,6	74,7	69,2	350,5
2012	50,7	21	1,7	71,6	71,8	351,8
2013	51	20,4	1,6	71,1	68,9	352,9
Media	50,8	18,7	1,6	73,1	68,9	350,7

Legendă: (P-1IA) - intervalul de la parturiție la prima inseminare artificială; (PR) - perioada de reproducere; (IA/G) - numărul mediu de inseminări pentru obținerea unei gestații; (Rc%) - rata de concepție; (SP) - service period; (CI) - calving interval.

În ceea ce privește numărul mediu de inseminări artificiale pentru obținerea unei gestații, în mod similar celor doi parametri menționați anterior, la vacile diagnosticate cu corp luteal persistent, au fost în medie nevoie de 2,7 inseminări artificiale pentru obținerea unei gestații (tabelul 4.4.), comparativ cu cele sănătoase, la care numărul mediu de inseminări a fost 1,6 (tabelul 4.5.).

Referitor la rata de concepție obținută pentru cele două categorii de animale, s-au observat diferențe evidente, având în vedere faptul că la vacile cu corp luteal persistent aceasta a fost de 47,8% (tabelul 4.4.), comparativ cu animalele sănătoase (73,1%) (tabelul 4.5.).

Având în vedere strânsa legătură între parametrii reproductivi menționați anterior și service periodul sau calving intervalul, și aceștia au prezentat variații de la un grup la altul.

Astfel, la grupul de vaci diagnosticate și tratate împotriva corpului luteal persistent, atât service periodul (159,6 zile), cât calving intervalul (442,1 zile) (tabelul 4.4.) au avut valori medii mai mari decât la vacile care și-au reluat ciclicitatea ovariană în decursul primelor 60 de zile postpartum (tabelul 4.5.).

Tabelul 4.6. Parametrii reproductivi la vacile diagnosticate cu boala chistică ovariană și tratate cu produse hormonale, în perioada 2010 – 2013

Table 4.6. Reproductive parameters in cattle with cystic ovarian disease, treated with hormonal products during 2010 – 2013

Anul de studiu	F-1IA (Zile)	PR (Zile)	IA/G (Nr.)	Rc %	SP (Zile)	CI (Zile)
2010	100,6	12,6	1,6	70	113,3	395,5
2011	89,8	18,3	1,8	68,7	108,1	392
2012	78,9	10,8	1,4	72	94,1	376,2
2013	83,3	23,4	1,8	73,7	106,6	390,7
Media	88,2	21	1,7	71,1	106	388,6

Legendă: (P-1IA) - intervalul de la parturiție la prima inseminare artificială; (PR) - perioada de reproducere; (IA/G) - numărul mediu de inseminări pentru obținerea unei gestații; (Rc%) - rata de concepție; (SP) - service period; (CI) - calving interval.

Tabelul 4.7. Parametrii reproductivi la vacile diagnosticate cu hipotrofie ovariană și tratate cu produse hormonale, în perioada 2010 – 2013

Table 4.7. Reproductive parameters in cattle with ovarian inactivity, treated with hormonal products during 2010 - 2013

Anul de studiu	F-1IA (Zile)	PR (Zile)	IA/G (Nr.)	Rc %	SP (Zile)	CI (Zile)
2010	82,6	24,5	1,8	76	107,1	365
2011	97	36,5	2,3	59	133,5	416,7
2012	78,9	13,8	1,4	78	92,7	372,7
2013	101,8	22,7	1,8	62	124,5	408,5
Media	91	24,4	1,8	68,5	114,4	390,7

Legendă: (P-1IA) - intervalul de la parturiție la prima inseminare artificială; (PR) - perioada de reproducere; (IA/G) - numărul mediu de inseminări pentru obținerea unei gestații; (Rc%) - rata de concepție; (SP) - service period; (CI) - calving interval.

Pentru celelalte două patologii ovariene (boala chistică ovariană și hipotrofia ovariană) urmărite în cadrul acestui studiu retrospectiv și care au ca formă de manifestare anestrul, valorile medii ale parametrilor reproductivi urmăriți, sunt redactate schematic în tabelele 4.6. și 4.7., cu mențiunea că în mod similar grupului diagnosticat și tratat împotriva persistenței corpului luteal, valorile medii ale parametrilor vizați au fost mai mari decât în cazul vacilor cu un puerperium normal.

4.3. Concluzii parțiale

1. În urma primului studiu retrospectiv 38,49% (321 vaci) din numărul total de 834 vaci de lapte, au fost diagnosticate cu afecțiuni ovariene ce au ca formă de manifestare anestrul.
2. În ceea ce privește distribuția afecțiunilor ovariene în funcție de anul de studiu, cea mai mare prevalență a acestora a fost înregistrată în anul 2010 (30,22%).
3. Cea mai mică prevalență a ovaripatiilor a fost observată în anul 2012, când valoarea maximă a fost de 20,56%.
4. Dintre cele trei ovaripatii urmărite, cea mai mare prevalență a fost înregistrată pentru corpul luteal persistent (48,59% din totalul de 321 ovaripatii), urmată de hipotrofia ovariană (28,67%), boala chistică ovariană având o prevalență de doar 22,74%.
5. În funcție de sezonul de fătare, s-a evidențiat că vacile la care parturiția s-a produs în perioada decembrie - mai, au înregistrat o prevalență crescută a afecțiunilor ovariene.
5. În urma analizei datelor înregistrate, s-a observat că prevalența ovaripatiilor studiate a fost maximă în cursul primei lactații, cu variații între 45,2% și 48,9%.
6. În ceea ce privește studiul cu privire la efectul tratamentelor hormonale asupra perioadei de reproducere, s-a evidențiat că existența patologiilor ovariene prelungește perioada de reproducere, ducând la un număr mai mare de inseminări artificiale pentru obținerea unei gestații, la prelungirea service periodului, al calving intervalului și implicit la creșterea pierderilor economice în cadrul fermei.

CAPITOLUL V. CERCETĂRI PRIVIND AFECȚIUNILE UTERINE CA FACTORI DE INFECUNDITATE LA VACILE DE LAPTE

CHAPTER V. RESEARCH REGARDING UTERINE DISEASES AS INFERTILITY FACTORS IN DAIRY CATTLE

Afecțiunile uterine și în special endometrita clinică, reprezintă cauze comune de infertilitate la vacile de lapte, și nu numai. Apariția patologiilor uterine și în special a metritelor și endometritelor, au o prevalență foarte crescută la vacile cu producții mari de lapte, determinând pierderi economice din cauza scăderii fertilității și a producției de lapte.

Totodată, tratarea iresponsabilă a acestor patologii uterine cu antibiotice, atrage după sine atât scăderea eficienței tratamentului administrat, cât mai ales creșterea riscului de selecție a unor tulpini bacteriene rezistente la antibiotice.

În acest sens, capitolul de față cuprinde observații privind prevalența afecțiunilor uterine și stabilirea prin metode complementare a diagnosticelor la vacile de lapte, izolarea, identificarea și determinarea sensibilității la antibiotice a germenilor implicați în endometritele clinice. De asemenea, acest capitol va cuprinde și analiza fenotipică și moleculară a unor tulpini de enterobacterii asociate cu rezistența crescută la antibioticele betalactamice.

5.1. Material și metodă

5.1.1. Observații privind prevalența afecțiunilor din sfera genitală și stabilirea prin metode complementare a diagnosticelor, la vacile de lapte

Studiul a fost efectuat pe un număr de 285 bovine din rasa Bălțată cu Negru Românească, provenite de la o fermă specializată în producția de lapte. Sistemul de întreținere al vacilor este liber în padoc, cu spațiu de mișcare, pat de odihnă și spațiu de furajare. Condiția corporală a animalelor este bună, iar producția medie anuală de lapte este cuprinsă între 6200 - 6300 litri/lactație normală/vacă.

Au fost examinate un număr de 285 de vaci, incluzând examenul general al vacilor (stabilirea scorului corporal, a gradului de umplere al rumenului, examinarea jaretelor, aplomburilor și ongloanelor) și cel ginecologic (vaginoscopia și examenul transrectal), stabilirea diagnosticului de certitudine realizându-se cu ajutorul examenului ecografic (ecograful portabil WED 2000V, cu sondă de 5 MHz).

5.1.2. Izolarea, identificarea și determinarea sensibilității la antibiotice a germenilor implicați în endometritele clinice

În urma examinărilor ginecologice, completate cu cele ecografice, s-au recoltat probe de secreții uterine modificate ca aspect (cu ajutorul tampoanelor exudat sterile) de la nivel vulvar, vaginal sau uterin.

Au fost recoltate un număr total de 35 de probe, provenite de la vaci cu endometrite cu simptome clinice, probe care au fost transportate la laboratorul de Microbiologie, din cadrul Facultății de Medicină Veterinară Iași, unde au fost realizate determinările microbiologice.

După recoltare, fiecare probă a fost supusă examenului bacterioscopic direct, realizându-se frotiuri colorate Gram, care ulterior au fost examinate la microscopul optic. În paralel, din probele inițiale au fost efectuate însămânțări pe mediul lichid bulion și incubate la 37°C timp de 24 de ore. Din mediul lichid însămânțat, au fost realizate din nou frotiuri colorate Gram și în funcție de rezultatele obținute au fost efectuate însămânțări pe medii speciale.

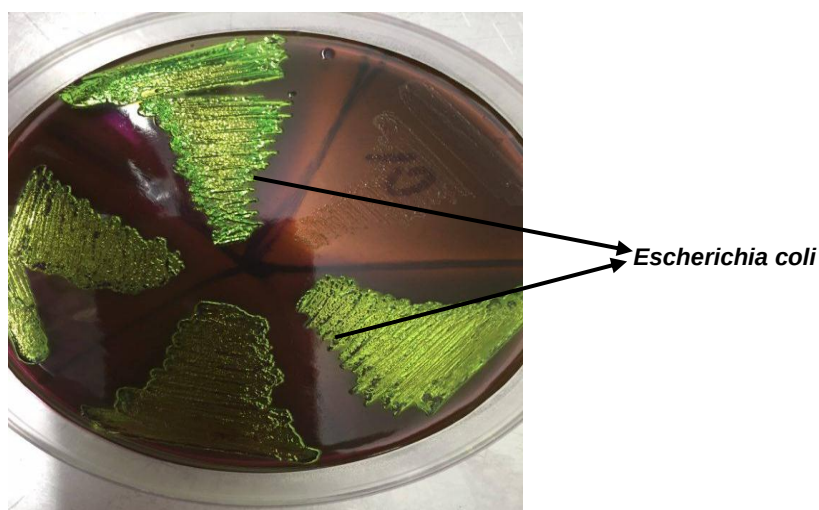


Fig. 5.1. *Escherichia coli* - aspecte culturale pe mediul Levine (foto original)

Fig. 5.1. *Escherichia coli* - cultural aspects on Levine Medium (original photo)

Bacteriile Gram negative identificate în frotiu au fost însămânțate pe mediu Levine (fig.5.1.), iar bacteriile Gram pozitive au fost însămânțate pe mediile Chapman și agar cu sânge (fig.5.2., fig.5.3.).

Și în cadrul acestei etape, incubarea a avut loc la 37°C timp de 24 de ore. Coloniile izolate obținute pe mediul Levine au fost apoi însămânțate pe mediile MIU (Mobilitate Indol Uree), TSI (Triple Sugar Iron) (fig.5.4.) și Simmons, în vederea stabilirii unor caractere biochimice minime, pe baza acestora realizându-se încadrarea taxonomică a tulpinilor izolate.

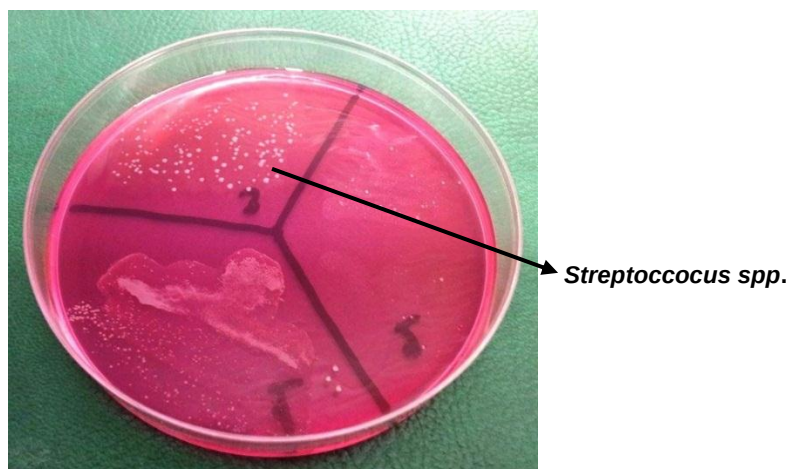


Fig. 5.2. *Streptococcus spp.* - aspecte culturale pe mediul Chapman (foto original)
Fig. 5.2. *Streptococcus spp.* - cultural aspects on Champann Medium (original photo)



Fig. 5.3. Bacterii Gram pozitive - aspecte culturale pe mediu agar cu sânge (foto original)
Fig. 5.3. Gram positive bacteria - cultural aspects on blood agar medium (original photo)

Pentru coloniile izolate obținute pe mediul Chapman și agar cu sânge, au fost realizate frotiuri colorate Gram, iar pe baza grupărilor caracteristice observate la microscop, precum și a unor caractere biochimice minime (testul catalazei și descompunerea manitolului) s-a realizat încadrarea taxonomică.

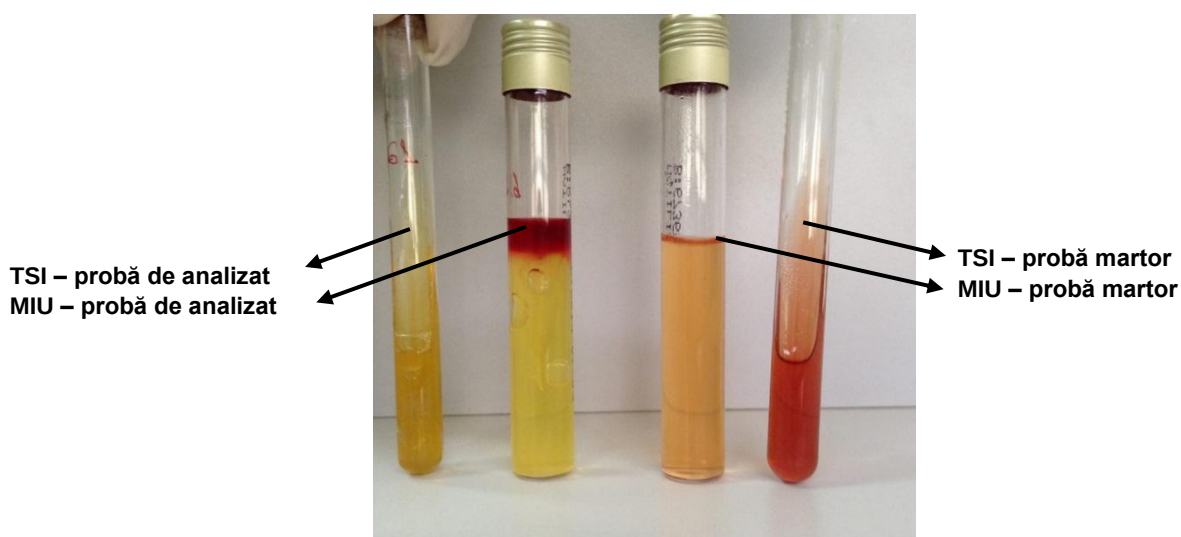


Fig. 5.4. Examenе biochimice - Mobilitate Indol Uree (MIU) și Triple Sugar Iron (TSI)
(foto original)

Fig. 5.4. Biochemical exams - Mobility Indole Urea (MIU) and Triple Sugar Iron (TSI)
(original photo)

Antibiogramele au fost efectuate din colonii proaspete (la 24 de ore de la izolarea bacteriilor implicate) și s-au realizat prin metoda difuzimetrică, cu ajutorul microcomprimatelor cu antibiotice, prin citirea diametrelor zonelor de inhibiție.

S-au realizat diluții a căror turbiditate a fost echivalentă cu turbiditatea 0,5 a scării McFarland, iar verificarea turbidității s-a realizat cu ajutorul densitometrului. Prin ștergerea cu ajutorul unor anse de însămânțare, au fost însămânțate plăci cu mediul Mueller Hinton. Microcomprimatoarele au fost aplicate cu ajutorul unui dispenser automat Oxoid.

Plăcile astfel realizate, au fost incubate la 37°C timp de 24 de ore. Interpretarea rezultatelor s-a realizat măsurând diametrul zonei de inhibiție la fiecare microcomprimat în parte. Rezultatele obținute au fost comparate și interpretate în funcție de standardul CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (CLSI, 2014).

Pentru realizarea antibiogramelor, au fost utilizate microcomprimatoarele cu antibiotice din următoarele clase (tabel 5.1.):

Tabelul 5.1. Clasele de antibiotice utilizate la realizarea antibiogramelor
 Table 5.1. Antibiotics classes used for antibiotics sensitivity testing

Clasa	Subclasa	Tipul de antibiotic
Beta-lactamine	Peniciline	- Penicilină - Amoxicilină - Ampicilină - Oxacilină
	Cefalosporine	- Cefoxitin - Cefotaxime - Cefoperazonă - Ceftiofur
Macrolide		- Eritromicină
Aminoglicozide		- Lincospectin - Gentamicină - Kanamicină
Glicopeptide		- Vancomicină
Fluorochinolone		- Enrofloxacin - Flumequine - Florfenicol
Tetraciclina		- Tetraciclina - Doxyciclina
Polipeptide ciclice		- Polimixina B - Colistin
Fenicoli		- Cloramfenicol
Sulfamide		- Trimetoprim cu Sulfametaxazol

5.1.3. Analiza fenotipică și moleculară a unor tulpini de enterobacterii asociate cu rezistența crescută la antibioticele betalactamice

În ultimii ani, la nivel mondial s-a raportat un număr tot mai mare de betalactamaze cu spectru extins identificate în enterobacteriaceele provenite de la oameni, animale de companie, de la animalele din crescătorii destinate consumului uman și chiar din alimente.

Plecând de la aceste considerente, după izolarea și identificarea tulpinilor de enterobacteriacee, toate izolatele au fost însămânțate pe Brilliance ESBL Oxoid (Oxoid, Basingstoke UK), un mediu specific pentru realizarea screeningului ESBL (Huang ș.a., 2010).

Izolatele care au generat colonii caracteristice pe mediul menționat anterior au fost considerate prezumtiv producătoare de ESBL și testate apoi prin metoda discurilor combinate, pentru a confirma fenotipic prezența acestor enzime (CLSI, 2014).

Tulpinile confirmate fenotipic au fost cultivate pe mediul agar cu sânge în vederea extracției genomului bacterian, prin metoda "boiled preps". Prin această tehnică, coloniile obținute pe mediul specificat anterior au fost suspendate într-o mie

de microlitri de apă distilată sterilă și menținute pe o baie de apă la 95°C, timp de 10 minute. După această etapă, s-a realizat centrifugarea suspensiei, 3 minute la 10000 rotații pe minut. După centrifugare, 0,5 ml de supernatant obținut pentru fiecare tulpină bacteriană a fost extras și utilizat ulterior ca template pentru reacțiile PCR (Protein Chain Reaction).

Caracterizarea substratului molecular al fenotipului ESBL s-a realizat prin tehnica PCR, respectând protocolul menționat în literatura de specialitate și a urmărit identificarea principalelor gene ce codifică enzimele ESBL: CTX-M, SHV și OXA (tabelul 5.2. și 5.3.).

Tabelul 5.2. Condiții de amplificare (prin PCR) pentru genele studiate (gene care codifică enzimele ESBL)

Table 5.2. Amplification conditions (by PCR) for studied genes (ESBL encoding genes)

Gena	Condiții		Surse bibliografice
CTX-MU	94°C- 3 minute	X30	Wedley ș.a., 2011
	94°C- 60 secunde		
	58°C- 60 secunde		
	72°C- 60 secunde		
	72°C- 5minute		
CTX-M1	94°C- 3 minute	X30	Wedley ș.a., 2011
CTX-M-2	94°C- 60 secunde		
CTX-M-9	58°C- 60 secunde		
	72°C- 60 secunde		
	72°C- 7 minute		
CTX-M-8	94°C- 5 minute	X30	Wedley ș.a., 2011
CTX-M-25	94°C- 25 secunde		
	52°C- 40 secunde		
	72°C- 50 secunde		
	72°C- 6 minute		
Multiplex TEM/SHV/OXA	94°C- 10 minute	X30	Dallenne ș.a., 2010
	94°C- 40 secunde		
	60°C- 40 secunde		
	72°C- 1 minut		
	72°C- 7 minute		

Legendă/Legend: **CTX-M** - Munich-cefotaximază; **OXA** - oxacilază; **SHV** - betalactamază - sulfhidril variabilă; **TEM** - Temoneira.

Tabelul 5.3. Temperatura de aliniere și designul primerilor utilizate la PCR (în scopul detecției genelor care codifică enzimele ESBL)
 Table 5.3. Alignment temperatures and primers design used for PCR (detection of encoding genes ESBL enzymes)

Primeri	Secvențele de nucleotide (5'-3')	Lungimea ampliconului (bp)	Temperatura de aliniere specifică	Surse bibliografice
CTX-MU	CTX-MU1: ATGTGCAGYACCAGTAARGTKATGGC CTX-MU2: TGGGTRAARTARGTSACCAGAAYCAGCGG	593	58°C	Wedley ș.a., 2011
CTX-M-1	CTX-M-1F: TGGGTRAARTARGTSACCAGAAYCAGCGG CTX-M-1R: AGC TTA TTC ATC GCC ACG TT	876	58°C	Wedley ș.a., 2011
CTX-M-2	CTX-M-2F: CGA CGC TAC CCC TGC TAT T CTX-M-2R : CCA GCG TCA GAT TTT TCA GG	893	58°C	Wedley ș.a., 2011
CTX-M-9	CTX-M-9F: CAA AGA GAG TGC AAC GGA TG CTXM-9-R : ATT GGA AAG CGT TCA TCA CC	876	58°C	Wedley ș.a., 2011
CTX-M-8	CTX-M-8F: TCG CGT TAA GCG GAT GAT GC 666 CTX-M-8/25R: AAC CCA CGA TGT GGG TAG C	666	52°C	Wedley ș.a., 2011
CTX-M-25	CTX-M-25F: GCA CGA TGA CAT TCG GG CTX-M-8/25R : AAC CCA CGA TGT GGG TAG C	327	52°C	Wedley ș.a., 2011
Multiplex TEM/SHV/OXA		800	60°C	Dallenne ș.a.,2010
	MultiTSO-T_for: CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC			
	MultiTSO-T_rev: CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC	713		
	MultiTSO-S_for: AGCCGCTTGAGCAAATTAAC			
	MultiTSO-S_rev: ATCCCGCAGATAAATCACCCAC	564		
	MultiTSO-O_for: GGCACCAGATTCAACTTTCAAG			
	MultiTSO-O_rev: GACCCCAAGTTTCCTGTAAGTG			

5.2. Rezultate și discuții

5.2.1. Rezultate și discuții cu privire la prevalența afecțiunilor din sfera genitală și stabilirea prin metode complementare a diagnosticelor, la vacile de lapte

Din analiza datelor înregistrate de la cele 285 de vaci examinate, (examinare transrectală și ecografică), prevalența afecțiunilor din sfera genitală a înregistrat o valoare de 21,75% din totalul vacilor examinate. Astfel, 8,42% din totalul vacilor examinate au fost diagnosticate cu endometrite clinice, persistența corpului luteal a fost diagnosticată la 6,32% din vaci, afecțiuni urmate de boala chistică ovariană (3,85%) și de hipotrofia ovariană, care a fost diagnosticată într-o proporție de 3,16% din totalul vacilor cu afecțiuni genitale (21,75%) (fig. 5.5.).

Examenul ginecologic local a constatat în examinarea vacilor cu ajutorul speculumului vaginal, pentru a putea identifica eventualele leziuni, afecțiuni sau anomalii genitale, cu ajutorul ecografului portabil, dar și prin metoda clasică de examinare transrectală.

Astfel, s-a realizat inspecția zonei vulvare, cu observarea conformației și a defectelor de conformație (urovagin sau pneumovagin), care ar putea compromite capacitatea reproductivă a femelei, a prezenței sau nu a secrețiilor vulvare precum și stabilirea naturii acestora.

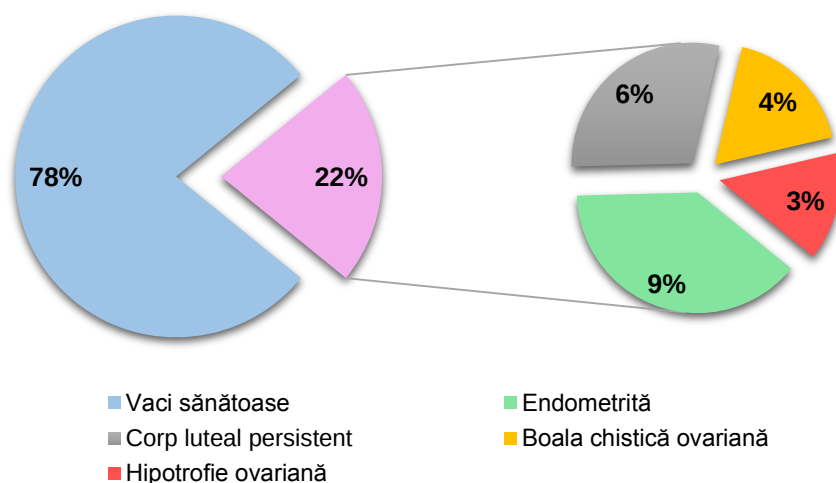


Fig. 5.5. Prevalența afecțiunilor din sfera genitală raportată la numărul total de vaci examinate

Fig. 5.5. Prevalence of genital disorders related to the total number of examined cattle

După toaletarea zonei peri-vulvare cu un prosop de hârtie umezit și curat, s-a realizat vaginoscopia cu ajutorul unui speculum vaginal lubrifiat, pentru vizualizarea mucoasei vaginale și a colului uterin.

Cu ajutorul unei lanterne, s-a putut vizualiza prezența de secreții la nivel vaginal, secreții notate după metoda propusă de Williams ș.a. (2005), pe o scară de la 0 la 5, astfel: 0 – fără eliminare de secreții; 1 – mucus clar; 2 – flocoane de material purulent combinate cu mucus clar; 3 – secreție mucopurulentă cu <50% material purulent; 4 – secreție mucopurulentă, cu >50% material purulent și 5 – secreție mucopurulentă cu >50% material purulent și miros respingător.

În urma inspecției și vaginoscopiei, s-a efectuat palparea transrectală a uterului la vacile care fie au prezentat la nivel vulvar sau vaginal secreții modificate ca aspect, fie erau încadrate în categoria vacilor cu anastru patologic, în urma verificării fișelor ginecologice din fermă.

În cadrul examenului transrectal s-au urmărit: identificarea și diametrul colului uterin (<5 cm, 5 până la 7,5 cm sau mai mare de 7,5 cm), topografia uterului (dacă acesta este în întregime în interiorul bazinului, dacă este situat peste marginea pelvină, dar complet palpabil după retragere, sau peste marginea bazinului și nu complet palpabil). În cazul în care diametrul cornului uterin a depășit diametrul de 4-5 cm, examenul transrectal, a fost completat cu examenul ecografic, pentru a stabili prezența de conținut lichid uterin, sau a unei eventuale gestații.

De asemenea, s-a urmărit stabilirea prin palpate a consistenței coarnelor uterine (flască, fermă, tonică) și/sau prezența de conținut uterin sau a unui fetus. Tot prin examinare transrectală, au fost examinate ovarele, pentru a stabili sau nu prezența de formațiuni ovariene (corp luteal, folicul, chist, hipotrofie ovariană).

Stabilirea diagnosticului de certitudine la vacile examinate și diagnosticate cu endometrită clinică s-a realizat cu ajutorul ecografului portabil (WED 2000V, cu sondă de 5 MHz), cu ajutorul căruia s-a examinat din nou tot tractusul reproductiv. Utilizarea ecografiei transrectale a prezentat avantajul unei măsurări mai obiective a diametrelor coarnelor uterine și a cervixului, precum și vizualizarea secreției purulente în interiorul lumenului uterin.

La cazurile la care s-a detectat prezența de lichid uterin, s-a încercat aprecierea diametrului cavității uterine în zona cu cea mai mare acumulare de lichid. În ceea ce privește identificarea structurilor prezente pe suprafața ovarelor, diagnosticul de certitudine s-a realizat tot cu ajutorul ecografului portabil, iar structurile ovariene dominante au fost reprezentate de corpii luteali, chisturile ovariene și foliculii ovarieni.

Examenele complementare au continuat cu recoltarea probelor de secreții cu aspect modificat de la nivel genital și prelucrarea microbiologică a acestora, tehnică detaliată în următorul subcapitol.

5.2.2. Rezultate și discuții cu privire la izolarea, identificarea și determinarea sensibilității la antibiotice a germenilor implicați în endometritele clinice

Analizele bacteriologice au evidențiat bacterii în cultură pură și mixtă. Pe mediul Levine au fost obținute colonii lactoză pozitive cu luciu metalic, aspect caracteristic pentru tulpinile de *Escherichia coli* și colonii lactoză pozitive cu aspect mucos, caractere care corelate cu proprietățile biochimice obținute pe MIU (Mobilitate Indol Uree), TSI (Triple Sugar Iron) și Simmons, au fost caracteristice pentru tulpinile de *Klebsiella pneumoniae* (fig. 5.8.).

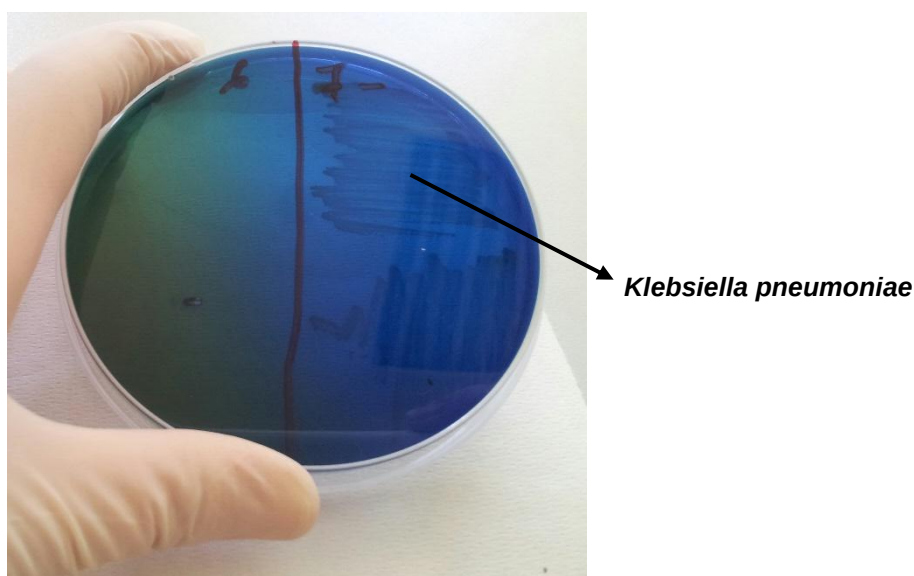


Fig. 5.6 Aspecte culturale pe mediul Simmons (*Klebsiella pneumoniae*), prin utilizarea carbon citratului ca sursă de creștere (foto original)

Fig. 5.6 Cultural aspects on Simmons Medium (*Klebsiella pneumoniae*), by using carbon citrate as a growth source (original photo)

Pe mediul Chapman au fost identificate colonii manitol pozitive și manitol negative. Caracteristicile culturale obținute pe mediul menționat anterior și pe agar cu sânge (beta-hemolitic), împreună cu caracterele morfologice, au fost corelate încadrând tulpinile Gram pozitive obținute în genul *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* și *Corynebacterium spp.*

Din totalul tulpinilor bacteriene izolate de la vacile cu semne clinice de endometrită, mai mult de jumătate dintre acestea au fost reprezentate de bacterii Gram negative (64%), iar 36% dintre tulpini au fost reprezentate de bacterii Gram pozitive (fig. 5.9.).

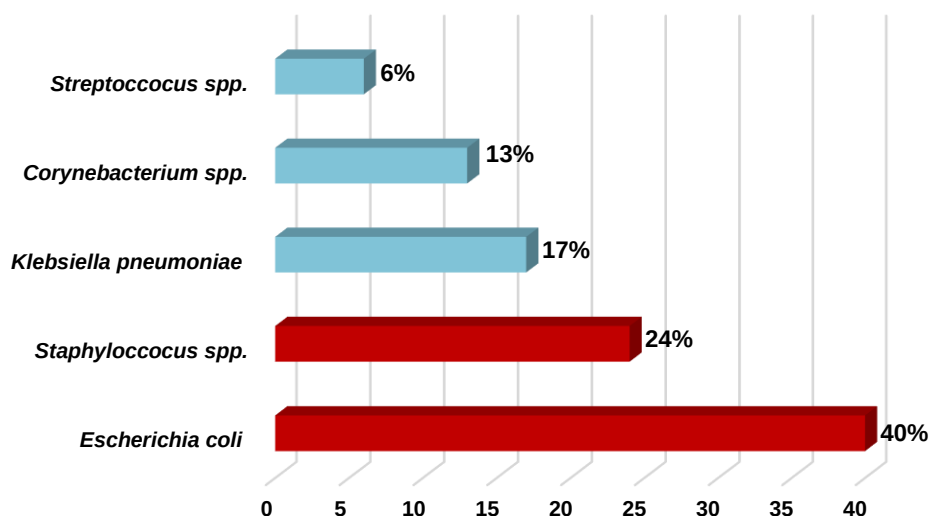


Fig. 5.7 Tipurile de tulpini bacteriene izolate de la vacile cu endometrite

Fig. 5.7 Bacterial strains types isolated from cows with endometritis

Analizând graficul de la fig. 5.9., observăm că de la cele 35 de vaci au fost izolate și identificate 47 de tulpini bacteriene, după cum urmează: 19 tulpini de *Escherichia coli* (40%), 11 tulpini au aparținut genului *Staphylococcus spp.* (24%), 8 tulpini au fost încadrate în specia *Klebsiella pneumoniae* (17%), 6 tulpini au aparținut speciei *Corynebacterium spp.* (13%) și doar 3 tulpini de *Streptococcus spp.* (6%).

În ceea ce privește stabilirea sensibilității germenilor izolați la antibioticele utilizate, rezultatele obținute au fost concentrate în cele două grafice de la fig. 5.8. și fig. 5.9.

Astfel, în urma analizei graficului de la fig. 5.8., realizat pentru tulpinile Gram negative testate cu ajutorul antibiogramei, observăm că toate tulpinile au fost rezistente la Amoxicilină potențată cu Acid Clavulanic. De asemenea, se observă că un procent destul de mare din tulpinile Gram negative izolate au fost rezistente la Penicilină, Ampicilină, Oxacilină și Vancomicină.

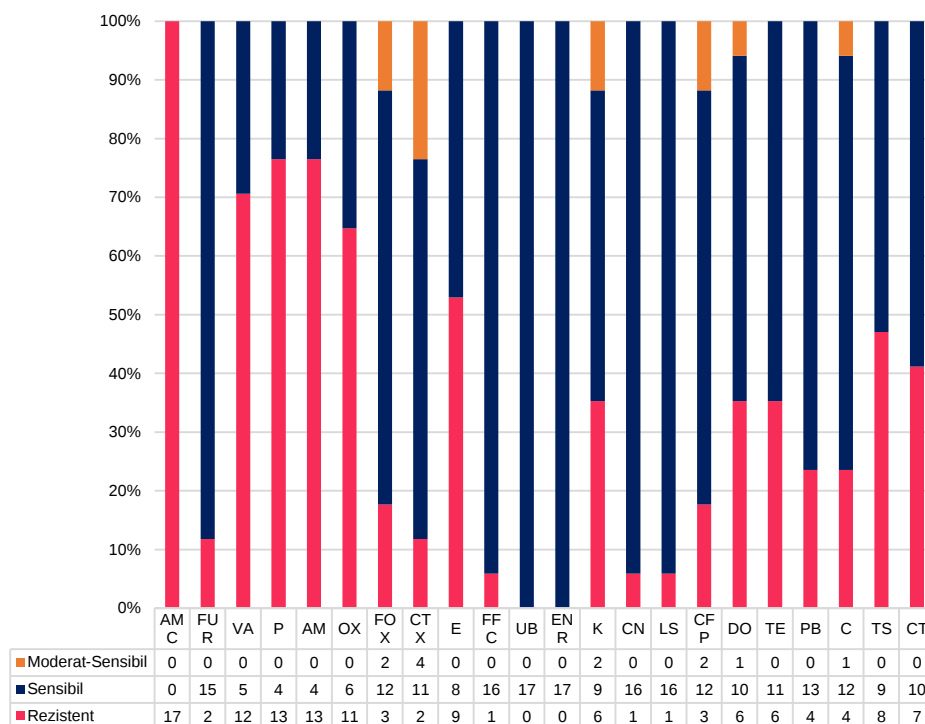


Fig. 5.8 Rezultatele antibiogramelor realizate pentru tulpinile Gram negative

Fig. 5.8 Antibiotic susceptibility results for Gram negative strains

Legendă/ Legend: AM-Amoxycillin/Clavulanic Acid; FUR-Ceftiofur; VA-Vancomycin; P-Penicillin; AM-Ampicillin; OX-Oxacillin; FOX-Cefoxitin; CTX-Cefotaxime; E-Erythromycin; FF-Florfenicol; UB-Flumequine; EN-Enrofloxacin; K-Kanamycin; CN-Gentamicin; LS-Lincospectin; CF-Cefoperazone; DO-Doxycycline; TE-Tetracycline; PB-Polymixin; C-Chloramphenicol; TS- Sulfadiazine/trimethoprim; CT-Colistin.

Rezistența crescută la antibioticele din clasa Beta-lactamilor este explicabilă și normală în contextul actual al antibiotezistenței, știut fiind faptul că tratamentul de primă intenție în cazul unor episoade infecțioase atât în medicina umană cât și în medicina veterinară se realizează cu antibiotice din clasa Beta-Lactamine. Toate tulpinile au fost sensibile la acțiunea antibioticelor din clasa Fluoroquinolone: Enrofloxacin și Flumequine.

Analizând graficul de la fig. 5.9. care prezintă rezultatele obținute la antibiogramele realizate pentru tulpinile Gram pozitive, observăm că toate tulpinile au fost sensibile la acțiunea antibioticelor din clasa Beta-lactamine, subclasa Cefalosporine: Ceftiofur, Cefoxitin, Cefotaxime.

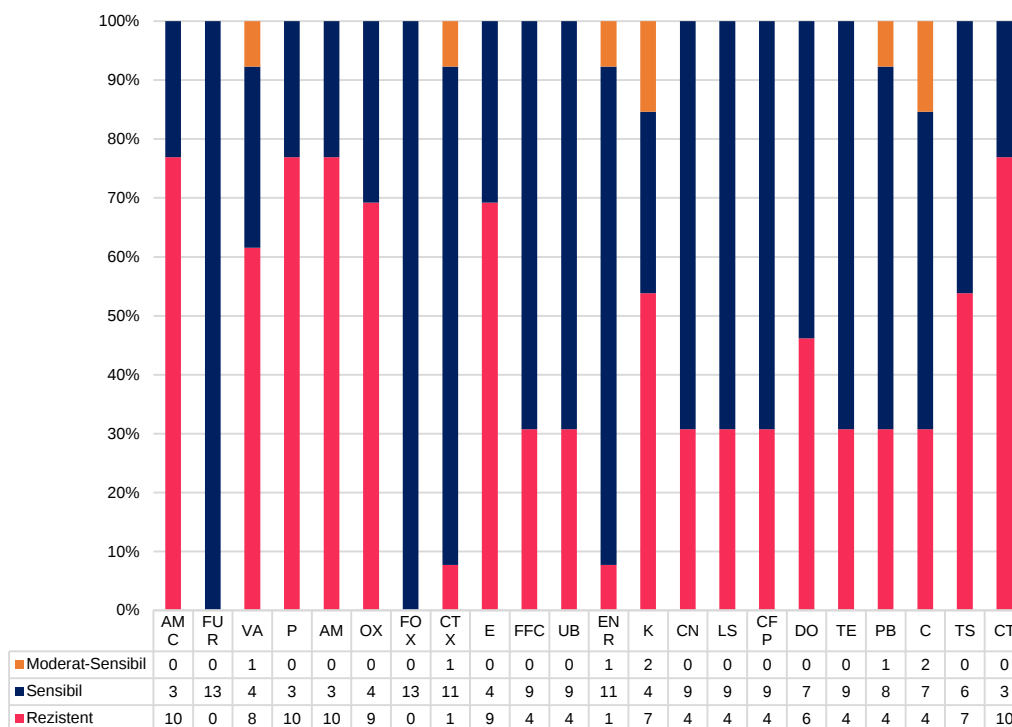


Fig. 5.9. Rezultatele antibiogramelor realizate pentru tulpinile Gram pozitive

Fig. 5.9. Antibiotic susceptibility results for Gram negative strains

Legendă/Legend: AM-Amoxycillin/Clavulanic Acid; FUR-Ceftiofur; VA-Vancomycin; P-Penicillin; AM-Ampicillin; OX-Oxacillin; FOX-Cefoxitin; CTX-Cefotaxime; E-Erythromycin; FF-Florfenicol; UB-Flumequine; EN-Enrofloxacin; K-Kanamycin; CN-Gentamicin; LS-Lincospectin; CF-Cefoperazone; DO-Doxycycline; TE-Tetracycline; PB-Polymixin; C-Chloramphenicol; TS- Sulfadiazine/trimethoprim; CT-Colistin.

În mod similar tulpinilor Gram negative, observăm că tulpinile Gram pozitive izolate, au prezentat o rezistență crescută la antibioticele din clasa Beta-lactamine, subclasa Peniciline: Amoxicilină potențată cu Acid Clavulanic, Ampicilină și Penicilină, dar și la antibiotice din clasa Macrolide (Eritromicina) sau la antibiotice din clasa Polipeptidelor ciclice (Colistin).

O parte dintre tulpinile izolate au prezentat sensibilitate selectivă pentru Enrofloxacin. Rezistență selectivă a fost identificată și la antibiotice din clasele Fluoroquinolone (Fluorfenicol, Flumequine), Aminoglicozine (Kanamycină, Gentamicină, Lincospectin), Sulfamide (Trimetoprim potențat cu Sulfometaxazol) și Tetraciline (Doxiclină și Tetracilină).

5.2.3. Rezultate și discuții cu privire la analiza fenotipică și moleculară a unor tulpini de enterobacterii asociate cu rezistența crescută la antibioticele betalactamice

Din totalul tulpinilor bacteriene izolate în cadrul studiului nostru (47), o importanță deosebită din punct de vedere microbiologic au avut-o doar 6 tulpini de enterobacteriacee, care au fost prelucrate ulterior pentru confirmarea acestora ca fiind tulpini producătoare de betalactamaze cu spectru extins (ESBL).

Spre deosebire de rezultatele obținute de alți autori (Wagner, 2003; Horton, 2011; Hartman, 2012; Schmid, 2013), în urma investigațiilor realizate în vederea identificării principalelor gene ce codifică enzimele ESBL, rezultatele noastre au fost negative pentru toate izolatele analizate.

Deși fenotipic tulpinile analizate au fost rezistente la majoritatea betalactaminelor testate, rezultatul negativ poate fi explicat fie prin prezența la nivel molecular a altor gene ce codifică enzimele ESBL și care nu au făcut subiectul testărilor noastre, fie prin prezența unui alt mecanism de rezistență ce poate determina acest tip de rezistență, cum ar fi mecanismul prin pompele de eflux.

De asemenea, în cazul studiului nostru tulpinile au fost testate doar pentru genele ESBL prezente la nivel de plasmidă și nu la nivel de cromozom. Mai mult decât atât, deși în literatura de specialitate sunt menționate studii care raportează portajul fecal cu enterobacterii ESBL (Sacha, 2016; Poole, 2017) sau infecții clinice determinate de aceste enterobacterii, considerăm că rezultatele noastre sunt limitate de numărul mic de probe analizate și de aria geografică restrânsă pentru studiu de față.

La momentul actual, studiul nostru reprezintă prima raportare la nivel național în ceea ce privește izolarea tulpinilor de enterobacterii producătoare de ESBL, deși nu s-a obținut și o confirmare moleculară, din motivele menționate mai sus.

Astfel, considerăm că din acest punct de vedere există o perspectivă de cercetare, în ceea ce privește posibila răspândire a tulpinilor producătoare de ESBL, dinamica de transmitere, impactul și importanța epidemiologică a portajului cu tulpini de enterobacterii producătoare de ESBL izolate de la vaci.

Această problemă nu trebuie privită doar din punct de vedere a influenței asupra circuitului de transmitere în natură, ci și din punct de vedere al implicațiilor economice pe care le-ar putea avea într-o fermă de vaci de lapte infecțiile determinate de tulpinile ESBL, atât asupra producției de lapte cât și asupra procesului reproductiv.

Măsurile stricte de igienă sunt obligatorii pentru a controla răspândirea, dinamica transmiterii și factorii de risc cu potențial zoonotic al bacteriilor producătoare de ESBL în fermele de vaci pentru lapte.

5.3. Concluzii parțiale

1. În urma studiului realizat cu privire la afecțiunile uterine ca factori de infecunditate la vacile pentru lapte, prevalența afecțiunilor din sfera genitală, a înregistrat o valoare de 21,75% din totalul animalelor examinate.

2. Din totalul vacilor examinate, 8,42% au fost diagnosticate cu endometrite clinice, persistența corpului luteal a fost diagnosticată la 6,32% dintre acestea, afecțiuni urmate de boala chistică ovariană (3,85%) și de hipotrofia ovariană, care a fost diagnosticată într-o proporție de 3,16% din totalul vacilor cu afecțiuni genitale (21,75%).

3. În urma prelucrării microbiologice a probelor de secreții vaginale sau uterine recoltate de la vacile cu semne clinice de endometrite, au predominat bacteriile Gram negative (*Escherichia coli* și *Klebsiella* spp.) într-o proporție de 64% din tulpinile izolate, în timp ce bacteriile Gram pozitive (*Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* și *Streptococcus* spp.) au fost izolate în proporție de 36%.

4. Tulpinile Gram negative au fost rezistente la Amoxicilină potențată cu Acid Clavulanic. De asemenea, s-a observat că un procent destul de mare din tulpinile Gram negative izolate au fost rezistente la Penicilină, Ampicilină, Oxacilină și Vancomicină.

5. Toate tulpinile Gram negative au fost sensibile la antibiotice din clasa Fluoroquinolone (Enrofloxacin și Flumequine).

6. Tulpinile Gram pozitive izolate, au prezentat o rezistență crescută la antibioticele din clasa Beta-lactamine, subclasa Peniciline: Amoxicilină potențată cu Acid Clavulanic, Ampicilină și Penicilină, dar și la antibiotice din clasa Macrolide (Eritromicina) sau la antibiotice din clasa Polipeptidelor ciclice (Colistin).

7. Toate tulpinile Gram pozitive au fost sensibile la acțiunea antibioticelor din clasa Beta-lactamine, subclasa Cefalosporine: Cefotiofur, Cefoxitin, Cefotaxime.

8. În urma investigațiilor realizate în vederea identificării principalelor gene ce codifică enzimele ESBL pentru tulpinile studiate, rezultatele noastre au fost negative pentru toate izolatele analizate.

9. Rezultatele noastre moleculare încurajează realizarea unor studii viitoare, având în vedere impactul și importanța epidemiologică a portajului cu tulpini de enterobacterii producătoare de ESBL izolate de la vaci.

CAPITOLUL VI. CERCETĂRI PRIVIND PRINCIPALELE AFECȚIUNI CE GENEREAZĂ SINDROMUL DE ANESTRU LA VACILE DE LAPTE

CHAPTER VI. RESEARCH REGARDING THE MAIN DISORDERS CAUSING ANESTRUS SYNDROME IN DAIRY CATTLE

Având în vedere că pe lângă principalii factori care afectează durata anestrului postpartum la vacile de lapte mai sunt incriminați și alți factori (vârsta, numărul parturițiilor, sezonul de fătare, involuția uterină întârziată, distociile și afecțiunile din perioada postpartum), în acest capitol ne-am propus să analizăm modul în care principalele afecțiuni din perioada postpartum influențează apariția sindromului de anestrus.

Astfel, scopul acestui studiu a fost de a identifica corelațiile dintre anumite afecțiuni postpartum (distocii, retenția anexelor fetale, febra vituleră, metrita, endometrita, ovaripatii) și alți parametri reproductivi, cu scopul de a stabili eventualii factori de risc pentru slaba performanță reproductivă a vacilor și consecințele negative pe care aceste patologii le au.

6.1. Material și metodă

Datele utilizate în cadrul acestui studiu exploratoriu au fost colectate de la două ferme de vaci de lapte, din regiunea de Est a Belgiei, pe o perioadă de doi ani consecutivi (2014-2015).

Vacile, din rasele Holstein (n=682; 163 primipare și 465 multipare) au fost întreținute în adăposturi demideschise în stabulație liberă, prevăzute cu alei centrale de furajare ad libitum, cu posibilitate de blocare selectivă a animalelor pentru efectuarea anumitor operațiuni sanitar veterinare, iar mulsul s-a realizat în săli de muls, cu o capacitate de 2x12 posturi, de două ori pe zi, dimineața și seara.

Datele urmărite cu privire la parametrii analizați, au fost: paritatea (primipară sau multipară), durata gestației, sezonul de fătare (primăvară: martie - mai; vară: iunie - august; toamnă: septembrie - noiembrie; iarnă: decembrie - februarie), tipul parturiției, afecțiunile din perioada postpartum (retenția placentară, febra vituleră, metrita, endometrita).

De asemenea, s-a realizat și o examinare manuală transrectală a ovarelor, completată cu cea ecografică (> ziua 20 și < ziua 51 postpartum), pentru diagnosticarea corpului luteal persistent, a chisturilor ovariene, ai foliculilor și a hipotrofiei ovariene.

Alți parametri urmăriți au fost: prezența sau absența estrului în decursul celor 60 de zile din perioada postpartum de anestru fiziologic, perioada de așteptare (fătare - prima inseminare artificială), perioada de reproducere, service periodul, calving intervalul, numărul de inseminări artificiale/gestație, indice de gestație, numărul de tratamente efectuate, precum și evoluția ulterioară a vacilor, dacă au fost reformatate sau nu.

Parturițiile au fost definite ca fiind eutocice în cazul în care vițelul a fost expulzat fără asistență. Parturițiile distocice au fost considerate ca fiind cele la care a fost necesară tracțiunea de mai mult de o persoană, cezarienele, avorturile și fătările gemelare.

Vacile la care s-au înregistrat retenții placentare (lipsa eliminării învelitorilor fetale în decurs de 12-24 ore după parturiție) sau la care s-au constatat prezența de secreții vaginale anormale (metrită sau endometrită) au fost considerate ca fiind vaci cu puerperium patologic.

Vacile care au fătat pe perioada celor doi ani de studiu, au fost examinate clinic ginecologic general și local (examinare transrectală/vaginoscopie), examinări completate cu cele complementare după caz (ultrasonografie/examinare bacteriologică a secrețiilor vaginale).

Primele examinări (generale și locale ale tractului genital) în perioada imediat următoare parturiției, au fost realizate pentru identificarea afecțiunilor care evoluează în mod frecvent în postpartumul timpuriu (retenție placentară, febră vituleră, metrită acută, endometrită).

Pentru colectarea datelor ginecologice, s-a realizat o monitorizare strictă din punct de vedere reproductiv a efectivului luat în studiu, pe o perioadă de doi ani consecutivi.

Informațiile au fost introduse într-o bază de date și prelucrate statistic cu ajutorul softului SPSS IBM vs.17. Pentru testarea normalității în cadrul grupului luat în studiu, s-au utilizat testele Kurtosis și Skweness.

După testarea normalității, în cadrul populației de animale studiată, parametrii au fost comparați cu testele Mann-Whitney U și Kruskal Wallis. Pragul de semnificație statistică a fost stabilit la 0,05. De asemenea, existența corelațiilor între variabilele pe care le-am urmărit, au fost realizate cu ajutorul testului Spearman, cu același prag de semnificație statistică.

6.2. Rezultate și discuții

În prima parte a studiului nostru, rezultatele s-au raportat la întreg numărul de animale luate sub observație ($n=682$), incluzând atât vacile care și-au reluat ciclitatea ovariană în decursul celor 60 zile postpartum, cât și cele cu afecțiuni utero-ovariene, care au fost diagnosticate cu anestru postpartum.

În cea de-a doua parte a studiului, numărul total de vaci luate în studiu s-a restrâns la 358, reprezentând doar acele animale care au prezentat afecțiuni ce generează sindromul de anestru.

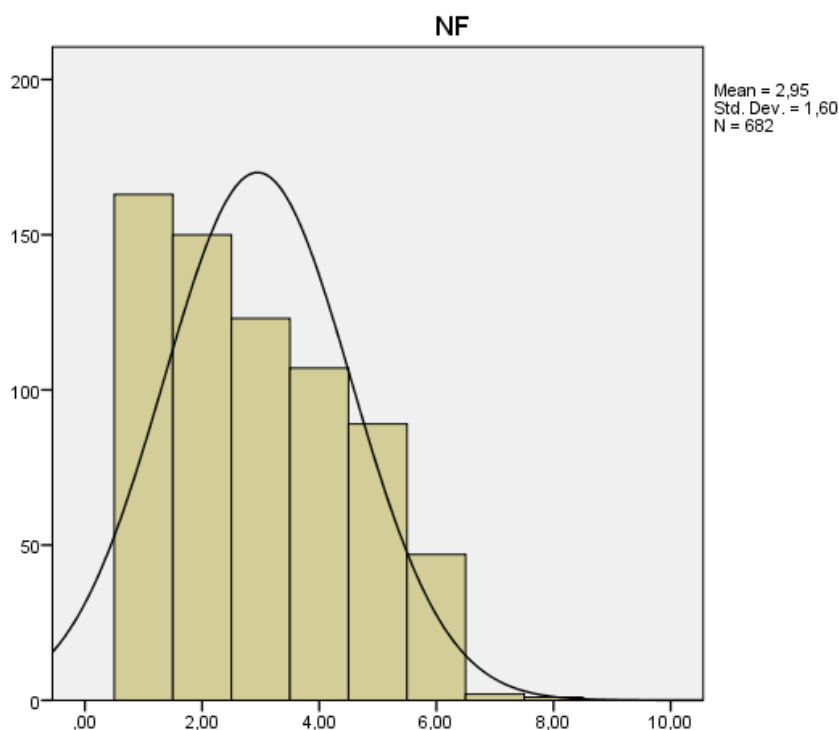


Fig. 6.1. Distribuția numărului de fătări (NF) raportată la numărul total de animale luate în studiu

Fig. 6.1. Calving distribution number reported to the total number of animals taken under study

Statistica descriptivă a evidențiat pentru grupul de animale luat în studiu ($nr.=682$), pe perioada celor doi ani, că numărul de fătări a variat între 1 și 8 (163 primipare și 465 multipare), cu o medie de 2,95 fătări și o deviație standard de 1,60. Considerăm astfel, că acesta este o populație tânără de animale, având în vedere faptul că doar 20,4% dintre vaci, au avut peste 5 lactații (fig. 6.1).

În ceea ce privește distribuția duratei de gestație la vacile din efectivele studiate (fig. 6.2.), aceasta a indicat o valoare medie de $281,81 \pm 4,12$ zile, cu un interval cuprins între 262 - 299 zile, rezultate similare studiului nostru fiind raportate și de alți autori

(Nadarajah ș.a., 1989) cu o durată medie de 281,3 zile, respectiv 281,6 zile (Norman ș.a., 2009) .

De asemenea, s-a observat o durată de gestație mai scurtă la vacile primipare, cu o medie de 280,9 zile, față de vacile cu mai mult de două fătări (282,08 zile), diferență semnificativă din punct de vedere statistic ($p < 0,01$), dar cu o corelație slab pozitivă ($r = 0,159$), confirmând astfel că durata gestației la vaci crește odată cu numărul lactației.

Vârsta vacii reprezintă un factor important care influențează durata gestației, iar rezultatele noastre susțin alte cercetări care au consemnat faptul că la juninci, durata gestației este mai scurtă decât la vacile multipare (Przysucha ș.a., 2009).

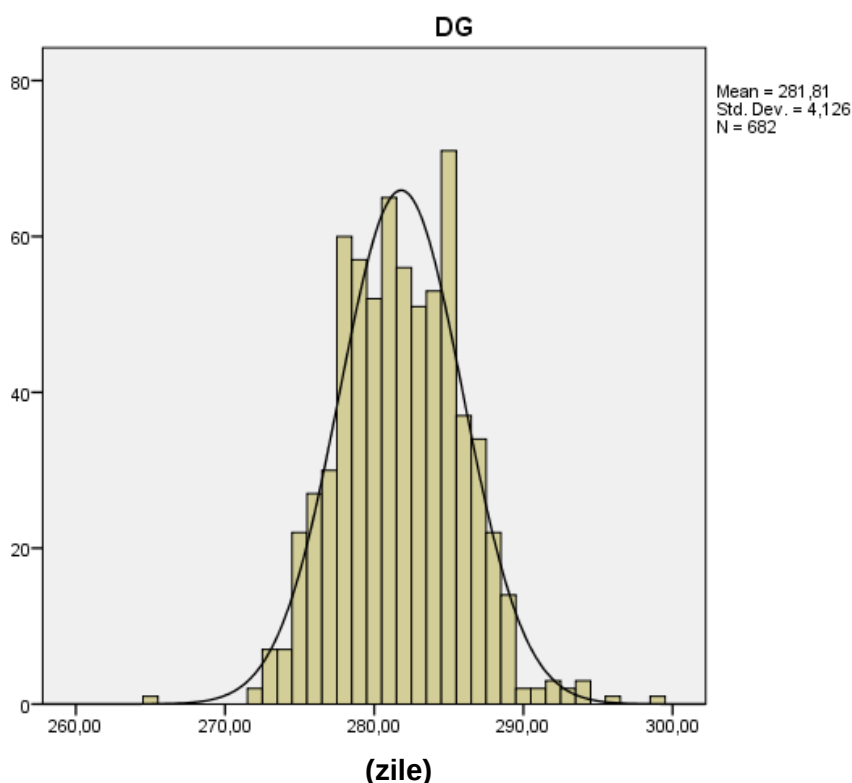


Fig. 6.2. Distribuția duratei de gestație (DG) raportată la numărul total de animale luate în studiu

Fig. 6.2. Pregnancy length (DG) distribution reported to the total number of animals taken under study

Referitor la repartitia fătărilor pe sezoane, raportate la întreg numărul de vaci luate în studiu, statistica descriptivă a evidențiat că 30,8% dintre acestea au înregistrat parturiții în anotimpul de vară, urmat cu un procent de 25,9 de cel de primăvară, cele mai puține parturiții fiind înregistrate în anotimpul de iarnă cu aproximativ 18% (tabelul 6.1.).

Din analiza statistică realizată, influența sezonului asupra parturițiilor, sau asupra celorlalți parametri studiați, indiferent de numărul lactației, sau de patologiiile din perioada postpartum, nu a fost semnificativă din punct de vedere statistic, cercetările noastre fiind în contrast cu alte studii care susțin că sezonul de fătare are o importanță majoră în problemele de reproducere la vaci și în mod particular în apariția anestrului postpartum (Gary ș.a., 1987; Paccard ș.a., 1981).

O posibilă explicație pentru rezultatele obținute de noi, față de alte studii realizate în acest sens, poate fi reprezentată de diferența numărului de indivizi pe care s-a realizat studiul, sistemul de întreținere, perioada luată în studiu, zona geografică, vârsta animalelor, precum și alți factori extrinseci, pe care nu i-am luat în calcul în studiul de față.

În ceea ce privește situația vacilor per total în funcție de ceilalți parametri analizați, statistica descriptivă a evidențiat că tipul de parturiție eutocică a reprezentat 66,3% din total, iar 33,7% dintre vaci au fost înregistrate ca având parturiții distocice.

Raportat la întreg efectivul, testul de corelație Spearman a evidențiat pentru tipul de fătare, corelații slabe negative cu numărul de fătări ($r=-0,191$), cu diagnosticul ovaripatiilor ($r=-0,358$) și cu diagnosticul de gestație ($r=-0,175$), dar cu o înaltă semnificație statistică ($p<0,01$).

Pentru retenția placentară, febra vituleră, metrită, endometrită, apariția estrului în primele 60 zile postpartum, perioada de așteptare, perioada de reproducere, service periodul, calving intervalul, numărul de inseminări artificiale/gestație, reforma și numărul de tratamente, au fost identificate corelații pozitive slabe, dar cu înaltă semnificație statistică ($p<0,01$).

Distribuția patologiiilor din perioada postpartum, împreună cu diagnosticul ovaripatiilor stabilit prin examen transrectal și completat cu cel ecografic ($>$ ziua 20 și $<$ ziua 50 postpartum), precum și alți parametri studiați (apariția estrului în primele 60 zile postpartum, diagnosticul de gestație și reforma), sunt redată numeric și procentual în tabelul 6.1.

În funcție de diagnosticul ovarian stabilit în urma examinărilor transrectale și ultrasonografice, realizate după ziua 20 și înainte de ziua 50 postpartum, vacile au fost împărțite în două categorii, în funcție de constatările clinice.

Din totalul animalelor luate în studiul nostru (nr.= 682), doar 6,6% (nr.= 45 vaci, dintre care: 29 vaci cu corp lupal persistent și 16 vaci cu boala chistică ovariană) și-au reluat ciclicitatea ovariană în decursul celor 60 zile postpartum.

Tabelul 6.1. Frecvența parametrilor studiați raportați la numărul total de vaci luate în studiu, în perioada 2015 – 2016

Table 6.1. Frequency of studied parameters reported to the total number of cows taken under study, during 2015 - 2016

Parametrul studiat	Frecvența	
	Nr.	%
Sezonul de fătare		
Primavara	177	25,9
Vara	210	30,8
Toamna	172	25,7
Iarna	123	17,6
Tipul de fătare		
Normală	452	66,3
Distocică	230	33,7
Retenție placentară		
Nu	603	88,4
Da	79	11,6
Febră vituleră		
Nu	595	87,2
Da	87	12,8
Metrită		
Nu	560	82,1
Da	122	17,9
Endometrită		
Nu	512	75,1
Da	170	24,9

Parametrul studiat	Frecvența	
	Nr.	%
Afecțiuni ovariene		
CLP	211	31
HO	65	9,5
K	82	12
F	324	47,5
Estru (<60 zile postpartum)		
Nu	313	45,9
Da	369	54,1
Diagnostic de gestație		
Nu	51	7,5
Da	631	92,5
Femele reformat		
Nu	623	91,3
Da	59	8,7

Legendă/Legend: **CLP** - corp luteal persistent; **HO** - hipotrofie ovariană; **K** - chist ovarian; **F** - folicul.

În urma examinărilor realizate cu scopul de a stabili prezența sau absența ovaripatiilor, la 45,9% (nr.=313) dintre vaci s-a observat prezența unor afecțiuni ovariene pe suprafața ovariană, fiind diagnosticate cu anestrus patologic postpartum. La restul de 47,5% (nr.=324) dintre animalele monitorizate, prezența foliculilor ovarieni și a semnelor estrale au fost interpretate ca fiind fiziologice și au fost excluse din studiul nostru (fig. 6.3).

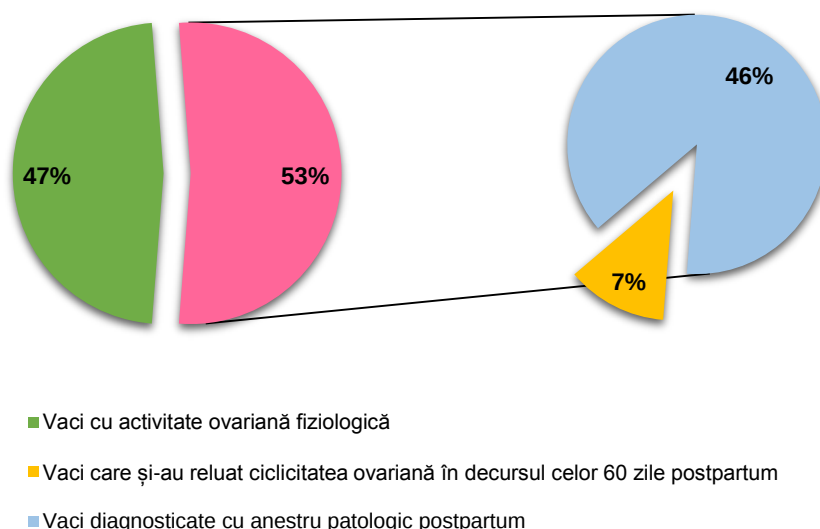


Fig. 6.3. Reluarea activității ovariene la vacile luate în studiu în perioada 2015 - 2016
 Fig. 6.3. Resumption of ovarian activity in cows taken under study during 2015 - 2016

În continuare, după prezentarea situației la nivelul întregii populații de animale urmărite în cadrul studiului nostru, atenția se va concentra strict pe animalele care au prezentat cele trei patologii ovariene menționate anterior, restrângând numărul de subiecți de la 682 de vaci, la un număr total de 313 vaci cu patologii ovariene care generează sindromul de anestru la vacă.

Statistica analitică realizată pentru cele 313 vaci care au prezentat afecțiunile ovariene evidențiate și în figura 6.3., a evidențiat cu ajutorul testelor de corelație Spearman atât corelații slabe, cât și puternice între parametrii studiați.

Corelațiile nonparametrice realizate, sunt prezentate în continuare în tabelul 6.2., unde sunt comparate între ele atât afecțiunile postpartum, cât și indicii de reproducere. Astfel, pentru tipul de parturiție, analiza statistică a evidențiat mai multe corelații, care deși sunt slabe, sunt cu o puternică semnificație statistică.

S-au observat corelații pozitive slabe, dar semnificative statistic ($p < 0,01$), între tipul de fătare distocică și retenția placentară ($r = 0,406$), febra vitulă ($r = 0,233$) și endometrita ($r = 0,211$). Similar studiului nostru, Benzaquen ș.a. (2007), afirmă că vacile care au prezentat parturiții distocice sunt mult mai predispuse să sufere afecțiuni postpartum așa cum sunt retenția anexelor fetale, febra vitulă și metrita.

Datele noastre au demonstrat că retenția placentară secundară tipului de fătare distocică, a fost un important factor predispozant pentru dezvoltarea endometritelor și a afecțiunilor metabolice, așa cum este febra vitulă.

Rezultatele noastre sunt susținute și de alte două studii realizate de Sheldon ș.a. (2004) și Opsomer ș.a. (2009), care au afirmat că fertilitatea vacilor cu parturiții

distocice și retenția anexelor fetale, este afectată de contaminarea bacteriană uterină, întrerupând astfel controlul endocrin normal al activității ovariene. Astfel, se determină perturbarea dezvoltării foliculare și cu atât mai mult, tendința de a preveni stabilirea unei noi gestații în prezența organismelor patogene din lumenul uterin.

De asemenea Lewis ș.a. menționează într-un studiu realizat în anul 1997, importanța condiției uterului la fătare sau imediat după, în sensul că aceasta poate determina dacă potențialii agenți patogeni cauzează infecții, importanță susținută și de alți autori (Bruun ș.a., 2002; Oltenacu ș.a., 1983).

Asfel, relația dintre retenția placentară și endometrită trebuie luată în considerare, o mare parte dintre cazurile de endometrită aparând secundar retenției placentare așa cum am evidențiat și în acest studiu, iar prezența endometritei este asociată la rândul ei, cu prezența unui corp luteal persistent. În acest sens, este justificabilă și corelația obținută de noi, între tipul de parturiție distocică și diagnosticul ovaripatiilor (corp luteal persistent, hipotrofie ovariană și chisturi ovariene) ($r=0,179$), corelație semnificativă statistic ($p<0,05$).

Parturiția distocică înregistrată la vacile din grupul cu ovaripatii, a influențat indicii de reproducere ale acestora (tabel 6.2.).

Perioada de reproducere, service periodul, calving intervalul, numărul de inseminări artificiale/gestație și numărul de tratamente realizate pentru tratarea afecțiunilor din sfera genitală, au fost semnificativ mai mari ($p<0,05$) comparativ cu vacile sănătoase.

Datele obținute indică faptul că prezența distociei la vaci, contribuie la creșterea perioadei de reproducere, a service periodului și a calving intervalului, date care sunt în concordanță și cu cele obținute de López de Maturana ș.a. în cadrul unui studiu realizat în anul 2007, în care a raportat efectul semnificativ din punct de vedere statistic al distociei, asupra indicilor reproductivi.

Referitor la corelația obținută între tipul de fătare distocică și numărul de inseminări artificiale/gestație, s-a observat că la vacile care au fost diagnosticate cu parturiții distocice, numărul de inseminări artificiale/gestație, a fost semnificativ mai mare, față de cele cu parturiții eutocice. Aceleași rezultate au fost obținute și de López de Maturana ș.a. (2007), care au evidențiat efectul negativ al distociei asupra numărului de inseminări necesar obținerii unei gestații.

Rezultatele din tabelul 6.2. evidențiază corelații pozitive slabe, semnificative statistic ($p<0,01$) și pentru alte afecțiuni din perioada postpartum. Astfel, s-au evidențiat corelații între retenția placentară și febra vituleră ($r=0,323$), endometrita ($r=0,198$) și perioada de așteptare - fătare-prima inseminare artificială ($r=0,215$).

Apariția febrei vitulere la vacile cu retenție placentară, este susținută și de alte studii, care au indicat faptul că retenția anexelor fetale secundară febrei vitulere, are o frecvență până la de trei ori mai mare la acestea, față de vacile care nu au prezentat retenția anexelor fetale (Houe ș.a., 2001).

În ceea ce privește corelația retenției placentare cu metrita, rezultatele noastre sunt în contradicție cu cele obținute de Youngquist ș.a. într-un studiu realizat în anul 2007. Aceștia afirmă că vacile cu retenția anexelor fetale sunt mult mai susceptibile de a dezvolta ulterior metrite (53%), față de cele fără această afecțiune postpartum (30%). În studiul nostru, o corelație între aceste două afecțiuni postpartum, a fost nesemnificativă din punct de vedere statistic (tabel 6.2.).

Similar cu tipul de fătare distocic și cu o parte a parametrilor studiați, și pentru retenția placentară s-au obținut corelații cu service periodul, calving intervalul și numărul de tratamente realizate pentru tratarea afecțiunilor din sfera genitală, acești indici de reproducere fiind în mod direct influențați de patologiele din perioada postpartum (tabelul 6. 2.).

Corelația pozitivă obținută între retenția placentară și perioada de așteptare (fătare-prima inseminare artificială) ($r=0,215$), înaltă semnificativ statistic ($p<0,01$), dar și cu febra vituleră, evidențiază că afecțiunile uterine și de altă natură, clinice sau subclinice din perioada puerperiumului timpuriu, sunt asociate cu subfertilitate și infertilitate.

Potrivit lui Esslemont ș.a., (2002), la nivelul unui efectiv de animale, existența acestor afecțiuni se caracterizează prin intervale mai lungi de timp între fătare și prima inseminare artificială, un service period mai lung, dar și o creștere a numărului de vaci sacrificate, deoarece nu reușesc să stabilească o nouă gestație în primele 80 de zile postpartum.

De asemenea, s-a observat că retenția placentară a determinat creșterea perioadei de așteptare în ceea ce privește apariția primului estru ($r=-0,154$), a intervalului fătare - prima inseminare artificială ($r=0,215$), a service periodului ($r=0,164$) și a calving intervalului ($r=0,159$) (tabel 6.2.), parametri care au fost modificați și în cazul unui studiu realizat de Gaafar ș.a. în anul 2010.

Febra vituleră s-a corelat cu 8 dintre cei 14 parametri urmăriți (tabel 6.2.), o importanță deosebită pentru studiul nostru având corelațiile acesteia cu endometrita, indicele de gestație, reforma și numărul de tratamente realizate pentru tratarea afecțiunilor din sfera genitală.

Apariția endometritelor la vacile care au prezentat febră vituleră, este explicată de Kimura ș.a. într-un studiu realizat în anul 2006, prin faptul că legătura dintre febra vituleră și imunosupresia peripartum constituie o bază puternică pentru asocierea acesteia cu endometrita.

Corelațiile febrei vitulere cu endometrita și cu ceilalți parametri, evidențiază că afecțiunile din perioada postpartum și fertilitatea scăzută din ferme ar putea avea ca factori predispozanți febra vituleră și hipocalcemia subclinică.

Tabelul 6.2. Corelarea afecțiunilor postpartum și ai indicilor de reproducere, la vacile cu ovaripatii
 Table 6.2. Correlations of postpartum diseases and reproductive indices, in cows with ovarian disorders

	TFD	RP	FV	M	E	E 60	CLP/ BCO/ HO	PA (F – 11A)	PR	SP	CI	Nr. IA/G	G%	REF	Nr. Trat.	Sezon
TFD	1.000	0.406**	0.233**	0.110	0.211**	-0.053	0.179*	0.034	0.159**	0.167*	0.161*	0.161*	-0.126	0.113	0.169*	0.049
RP		1.000	0.323**	0.037	0.198**	-0.154*	0.120	0.215**	0.345	0.164*	0.159*	0.063	-0.079	0.085	0.171*	0.065
FV			1.000	0.018	0.211**	-0.121	-0.100	0.103	0.203**	0.224**	0.229**	0.223**	0.265**	0.224**	0.312**	0.016
M				1.000	0.398**	-0.113*	0.204*	0.103*	0.191**	0.193	0.197**	0.184**	-0.040	0.054	0.153*	0.042
E					1.000	-0.160*	0.403**	0.115*	0.319**	0.301**	0.299**	0.333**	-0.155*	0.133	0.310**	-0.004
E 60						1.000	-0.107**	-0.574**	-0.210**	-0.325**	-0.226**	-0.157*	-0.124	-0.138*	-0.170**	-0.105
CLP/ BCO/ HO							1.000	-0.026	0.384**	0.369**	0.377**	0.382**	-0.154*	0.124	0.396**	0.039
PA (F – 11A)								1.000	0.132**	0.398**	0.382**	0.093	-0.186**	0.184**	0.203**	0.028
PR									1.000	0.798**	0.797**	0.984**	-0.405**	0.334**	0.725**	0.013
SP										1.000	0.991**	0.791**	-0.426**	0.364**	0.765**	0.008
CI											1.000	0.790**	-0.420**	0.358**	0.758**	0.005
Nr. IA/G												1.000	-0.442**	0.362**	0.751**	0.013
G%													1.000	-0.924**	-0.482**	0.034
REF														1.000	0.426**	0.008
Nr. Trat															1.000	0.008
Sezon																1.000

* Corelația este semnificativă $p < 0.05$.

** Corelația este semnificativă $p < 0.01$.

Legendă: TFD – tip de fătare distocic; RP – retenție placentară; FV – febră vituleră; M – metrită; E – endometrită; E60 – apariția semnelor estrale în decursul celor 60 zile postpartum; CLP/ BCO/ IO – corp luteal persistent/ boala chistică ovariană/ inactivitate ovariană; PA (F-11A) – perioada de așteptare (fătare-prima inseminare artificială); PR – perioadă de reproducere; SP – service period; CI – calving interval; Nr. IA/G – numări de inseminări/gestație; G% – indice de gestație; REF – reformă; Nr.Trat. – număr de tratamente realizate pentru tratarea afecțiunilor din sfera genitală.

Cea din urmă afecțiune este responsabilă potrivit lui Khan ș.a. (2015), de apariția retenției placentare, a prolapsului uterin, metritei, mamitei, stazei ruminale, de depresia sistemului imunitar și reducerea performanței reproductive, determinând astfel, reducerea vieții reproductive cu 3-4 ani.

În cadrul unui studiu realizat în anul 2005, Whiteford ș.a., afirmă că vacile cu hipocalcemie clinică au avut un diametru mai mare al cornului uterin gestant, având o involuție uterină mai lentă și o probabilitate semnificativ mai mică de a fi diagnosticate cu un corp luteal ciclic (indicator al ovulației după parturiție) față de vacile sănătoase.

Toate acestea, au ca rezultat reducerea fertilității la vaci, o involuție uterină mai lentă și reducerea fluxului sanguin la nivelul ovarelor. De asemenea, există și efecte indirecte ale febrei vitulere asupra fertilității, rezumate în cazul studiului nostru prin corelația acestora cu distociile, endometritele și retențiile placentare, aceleași rezultate fiind obținute și de Mulligan ș.a. (2006).

Corelațiile obținute între febra vitulere și restul parametrilor studiați, ne indică faptul că această afecțiune din perioada de postpartum timpuriu afectează funcția reproductivă a vacilor, prelungind perioada de reproducere, implicând un număr mai mare de tratamente realizate pentru tratarea afecțiunilor din sfera genitală și de inseminări artificiale, dar și o rată de concepție mai scăzută față de animalele sănătoase.

Metrita s-a corelat pozitiv cu endometrita ($r=0,398$), cu diagnosticul ovaripatiilor ($r=0,204$), cu perioada de așteptare (fătare - prima inseminare artificială) ($r=0,103$), perioada de reproducere ($r=0,191$), service periodul ($r=0,193$), calving intervalul ($r=0,197$), numărul de inseminări artificiale/ gestație ($r=0,184$), corelații cu o semnificație statistică $p<0,01$, dar și cu numărul de tratamente realizate pentru tratarea afecțiunilor din sfera genitală ($r=0,153$) ($p<0,05$) (tabel 6. 2.).

Singura corelație negativă a metritei, a fost cu apariția estrului în primele 60 de zile postpartum ($r=0,113$) ($p<0,05$), această afecțiune din perioada postpartum fiind alături de celelalte două (retenția placentară și endometrita), patologii care favorizează o reluare tardivă a ciclicității ovariene.

Dohmen ș.a. (2000), afirmă în cadrul unui studiu, că metritele care apar secundar retenției anexelor fetale, au ca punct de plecare prezența țesuturilor placentare descompuse, care asigură un mediu favorabil pentru colonizarea bacteriană. Astfel, bacteriile coliforme și concentrațiile mari de endotoxine prezente în loșiile vacilor cu retenții placentare, sunt inductori potenți ai prostaglandinelor și citokinelor, care favorizează dezvoltarea infecțiilor uterine, în acest fel putându-se justifica și corelația pozitivă a endometritelor din studiul nostru cu metritele.

Similar studiului nostru, Maizon ș.a. (2004), au descris un service period mai lung la vacile cu metrită postpartum, precum și o perioadă de reproducere mai lungă, față de vacile care nu au prezentat această patologie postpartum.

De asemenea, similar rezultatelor obținute de noi, Garcia ș.a., au evidențiat într-un studiu realizat în anul 2003, un efect negativ semnificativ al metritelor puerperale asupra intervalului fătare - prima inseminare artificială, parametru față de care metrta a prezentat în studiul nostru o corelație slabă, dar semnificativă din punct de vedere statistic ($p < 0,05$) (tabel 6.2.). De asemenea, și în ceea ce privește service periodul și numărul de inseminări artificiale/ gestație, datele noastre coincid cu cele obținute de Garcia ș.a. (2003).

Prezența endometritei s-a corelat negativ cu apariția estrului în primele 60 zile postpartum ($r = -0,160$) ($p < 0,05$), pozitiv cu prezența ovaripatiilor ($r = 0,403$), cu perioada de reproducere ($r = 0,319$), service periodul ($0,301$), calving intervalul ($r = 0,299$), cu numărul de inseminări artificiale/ gestație ($r = 0,184$) și cu numărul de tratamente realizate pentru tratarea afecțiunilor din sfera genitală ($r = 0,310$).

Aceste corelații sunt semnificative din punct de vedere statistic ($p < 0,01$), (tabelul 6.2.), confirmând astfel că afecțiunile uterine clinice, în cazul de față endometrita, sunt asociate cu subfertilitatea și cu infertilitatea. În același timp, am observat că majoritatea indicilor reproductivi sunt în strânsă dependență unul față de celălalt.

În ceea ce privește apariția estrului în decursul celor 60 zile postpartum, analiza statistică a evidențiat opt corelații negative slabe, dar semnificative din punct de vedere statistic ($p < 0,01$). Dintre afecțiunile postpartum urmărite, doar retenția placentară, metrta și endometrita au prezentat un interes deosebit pentru studiul de față, datorită corelațiilor realizate cu restul parametrilor urmăriți.

Astfel, putem afirma că aceste afecțiuni au influențat în sens negativ reluarea ciclicității ovariene în decursul primelor 60 zile postpartum, favorizând alături de ovaripatiile evidențiate în figura 6.3., instalarea sindromul de anestru.

Această ipoteză este susținută și de alte studii, care susțin că prezența retenției placentare, metritele, cât și o contaminare bacteriană severă, pot predispute vacile la o întârziere în reluarea ciclicității ovariene și în instalarea anestrului (Opsomer ș.a., 2000; Walsh ș.a., 2007).

Corelația negativă între perioada de așteptare - fătare - prima inseminare artificială și apariția estrului în primele 60 zile postpartum, este susținută și de Walsh ș.a. (2007), care afirmă într-un studiu că afecțiunile din perioada postpartum, inclusiv retenția placentară, deplasarea abomasumului și prezența afecțiunilor podale apărute înainte de sfârșitul perioadei de așteptare voluntară, au crescut semnificativ probabilitatea ca vacile să se confrunte cu lipsa ovulației.

Numărul de tratamente realizate pentru tratarea afecțiunilor din sfera genitală corelat cu restul parametrilor și în special cu febra vituleră ($r = 0,312$), care este de asemenea în strânsă legătură cu retenția anexelor fetale ($r = 0,323$), evidențiază faptul că cea din urmă patologie, este strâns legată de alte afecțiuni care implică tratamente ulterioare și duc la scăderea capacității reproductive a vacilor.

Rezultatele obținute de noi sunt susținute și de Borsbery ș.a. (1989), care au raportat într-un studiu realizat în 5 ferme din Marea Britanie că vacile diagnosticate cu febră vituleră au avut un număr mai mare de inseminări artificiale/ gestație (1.7 versus 2), o perioadă de așteptare fătare - prima inseminare artificială mai lungă (68 versus 61 zile) și un service period mai mare (88 versus 76 zile).

Corelațiile pozitive obținute între perioada de reproducere și service periodul ($r=0,798$), calving intervalul ($r=0,797$), numărul de inseminări artificiale/ gestație ($r=0,984$), reforma ($r=0,334$) și numărul de tratamente realizate pentru tratarea afecțiunilor din sfera genitală ($r=0,725$) sunt semnificative statistic ($p<0,01$). Acestea indică faptul că afecțiunile postpartum diagnosticate tardiv sau cele subclinice, devin o problemă atunci când inseminările realizate devin inefficiente din cauza absenței simptomelor clinice de nivelul tractului reproducător.

Corelațiile obținute de noi și menționate mai sus, sunt susținute și de Lee ș.a. (2007) și Gilbert ș.a. (2011), care afirmă că inflamarea uterului la vaci provoacă modificări ale endometriului, ce perturbă fecundarea, împiedică implantarea sau poate duce la resorbții embrionare timpurii.

În ceea ce privește influența afecțiunilor postpartum asupra indicilor de reproducere în funcție de numărul de fătări sau cum aceste patologii s-au corelat între ele, analiza statistică a evidențiat următoarele corelații.

La vacile primipare, statistica analitică a evidențiat corelații între următorii parametri studiați: fătarea distocică și retenția anexelor fetale ($r=0,367$) ($p<0,01$), între metrită și endometrită ($r=0,441$) ($p<0,01$), între metrită și numărul de inseminări artificiale/gestație ($r=0,294$), între endometrită și service period ($r=0,331$) și între endometrită și calving interval ($r=0,313$), ultimele 3 având o semnificație statistică $p<0,05$.

Similar studiului nostru, pentru vacile cu o singură parturiție și alți autori au observat că distociile și retenția anexelor fetale se corelează între ele și sunt știute că sunt factori de risc pentru apariția ulterioară a metritelor și a endometritelor (Correa ș.a., 1993; Miller ș.a., 1994; Dubuc ș.a., 2010).

De asemenea, corelațiile obținute între metrită, endometrită și indicii reproductivi urmăriți, evidențiază faptul că secundar acestor afecțiuni postpartum, capacitatea reproductivă a animalelor este afectată. Han ș.a. (2005), afirmă în cadrul unui studiu, că incidența crescută a endometritelor la vacile care au prezentat retenția anexelor fetale poate afecta semnificativ performanța reproductivă a acestora.

În cadrul aceluiași studiu, Han ș.a. (2005), susțin că ținând cont de incidența crescută a endometritelor apărute secundar retenției anexelor fetale, performanța reproductivă scăzută pare să fie cauzată în mare parte printr-un efect indirect al endometritelor, situație întâlnită și în cazul studiului nostru.

Corelațiile obținute de noi la vacile multipare între distocie și febră vituleră, distocie și retenție placentară, retenție placentară și febră vituleră, febră vituleră și indice de gestație, febră vituleră și număr de tratamente, metrită și endometrită, metrită și număr de inseminări artificiale/ gestație și între endometriă și numărul de inseminări artificiale/gestație, evidențiază faptul că afecțiunile din perioada de postpartum timpuriu sunt cunoscute potrivit lui Gröhn ș.a. (2000), ca fiind factori ce afectează performanța reproductivă a vacilor de lapte.

În cadrul unui studiu, Chebel ș.a. (2004), au demonstrat o asociere între ratele de concepție, retenția placentară și febra vituleră, iar vacile care au prezentat aceste afecțiuni postpartum, au avut o fecunditate mai scăzută, față de cele care nu au prezentat aceste afecțiuni.

Corelațiile evidențiate pentru vacile diagnosticate cu persistența corpului luteal între febra vituleră și o parte dintre parametri urmăriți în studiul nostru, sunt susținute și de alte studii în care se subliniază faptul că afecțiunile reproductive duc la o scădere a performanței reproductive, întrucât efectul altor afecțiuni este în primul rând indirect.

Acest lucru este susținut și de Østergaard ș.a. (1998), sugerând că febra vituleră scade în mod indirect fertilitatea, întrucât această afecțiune reprezintă un factor de risc pentru alte afecțiuni (distocia, retenția placentară, boala chistică ovariană, metrita și orice altă afecțiune din perioada postpartum), care provoacă în mod direct o scădere a fertilității.

Așa cum am menționat anterior în studiul nostru (tabelul 6.2.), parturițiile distocice influențează în sens negativ indicii reproductivi, determinând o creștere a perioadei de reproducere, a service periodului, respectiv calving intervalului și implicit o întârziere în instalarea unei gestații în intervalul de timp optim pentru vacile de lapte.

Similar vacilor cu parturiții distocice și vacile cu endometrite au avut indicii reproductivi modificați, această afecțiune fiind alături de celelalte patologii din perioada postpartum factori care prelungesc calving intervalul și care determină o performanță reproductivă scăzută la vaci.

Corelațiile negative obținute între apariția semnelor estrale în decursul celor 60 zile postpartum și perioada de așteptare (fătare-prima inseminare artificială) semnificative statistic ($p < 0,01$) pentru vacile diagnosticate cu corp luteal persistent, indică faptul că atât primiparele, cât și multiparele care au prezentat ovaripatiile ce generează sindromul de anestru și patologii din perioada postpartum menționate anterior în studiu, au influențat în sens negativ apariția estrului la vaci.

Corelațiile negative obținute atât la vacile primipare, cât și la cele multipare sunt susținute și de alți autori care au afirmat că paritatea reprezintă un factor de risc pentru sindromul de anestru (Opsomer ș.a., 2000; Santos ș.a., 2009).

De asemenea, o mare parte a studiilor sugerează că vacile primipare prezintă un risc mai mare de apariție a anestrului din cauza întârzierii primei ovulații.

Vacile multipare, în special cele cu mai mult de patru fătări, sunt descrise ca având un risc mai crescut pentru dezvoltarea acestui sindrom, din cauza prelungirii fazei luteale. Motivul poate fi acela că, odată cu creșterea numărului de parturiții, mucoasa uterină necesită mai mult timp pentru a se reface, înainte de stabilirea unei gestații, crescând astfel riscul de apariție al piometrului și al corpului luteal persistent (Opsomer ș.a., 2000).

Pe lângă paritate, care este considerată ca fiind un factor favorizant pentru apariția anestrului la vaci, femelele cu metrite și cu o contaminare bacteriană severă a uterului, sunt expuse unei întârzieri în ceea ce privește reluarea ciclicității ovariene, lucru menționat și de Opsomer ș.a., în cadrul studiului realizat în anul 2000.

În cele ce urmează, ne vom referi strict la vacile diagnosticate cu corp luteal persistent și la corelațiile nonparametrice, obținute pentru acest grup de animale. Astfel, la vacile diagnosticate cu prezența acestei afecțiuni ovariene, analiza statistică a evidențiat o corelație medie negativă între apariția semnelor estrale în decursul celor 60 zile postpartum și perioada de așteptare (fătare – 1 inseminare artificială) ($r = -0,597$) semnificativă statistic ($p < 0,01$).

Această condiție este caracteristică pentru tipul IV de anestr, la care semnele estrale, ovulația și formarea corpului luteal sunt normale, dar cu prelungirea peste normal a fazei luteale, din cauza lipsei de regresie luteală.

Potrivit lui Wiltbank ș.a. (2002), un factor care contribuie la păstrarea acestei condiții, poate fi reprezentat de lipsa unui folicul dominant estrogenic, la momentul așteptat al regresiei luteale.

Pentru febra vituleră, analiza statistică a evidențiat două corelații slabe pozitive, semnificative statistic ($p < 0,05$), cu tipul de fătare distocică ($r = 0,204$) și endometrita ($r = 0,235$). Rezultatele obținute de noi în cadrul acestui studiu, sunt similare cu cele obținute și de alți autori, care au evidențiat efectul indirect al febrei vitulere asupra fertilității vacilor, prin prezența distociilor, endometritelor și retenției anexelor fetale (Mulligan ș.a., 2006).

Așa cum am evidențiat și anterior în cazul corelațiilor obținute pentru tot grupul de vaci cu ovariopatii, la animalele diagnosticate cu corp luteal persistent, endometrita s-a corelat pozitiv cu tipul de fătare distocică ($r = 0,236$), cu retenția anexelor fetale ($r = 0,207$) și metrita ($r = 0,455$), corelații care au fost semnificative statistic ($p < 0,05$), influențând în sens negativ capacitatea reproductivă a vacilor.

Corelația negativă obținută în studiul nostru între retenția placentară și apariția estrului în primele 60 zile postpartum, este susținută și de un studiu realizat de Opsomer ș.a. (2000), care au demonstrat că vacile cu retenția anexelor fetale, prezintă un risc crescut de întârziere în reluarea activității ovariene.

Referitor la indicii de reproducere pentru grupul de vaci diagnosticate cu corp luteal persistent, aceștia s-au corelat cu febra vituleră și endometrita, putând afirma astfel, că la vacile care au prezentat patologia menționată anterior, capacitatea reproductivă a fost influențată în sens negativ.

Astfel, febra vituleră s-a corelat pozitiv cu perioada de reproducere ($r = 0,210$), service periodul ($r = 0,243$), calving intervalul ($r = 0,248$), numărul de inseminări artificiale/ gestație ($r = 0,240$), reforma ($r = 0,314$) și numărul de tratamente realizate pentru tratarea afecțiunilor din sfera genitală ($r = 0,346$), corelații care au fost semnificative din punct de vedere statistic ($p < 0,01$), singura corelație negativă a febrei vitulere, fiind cu diagnosticul de gestație ($r = -0,344$).

Spre deosebire de febra vituleră, endometrita s-a corelat pozitiv doar cu patru indici reproductivi (service periodul, calving intervalul, numărul de inseminări artificiale și numărul de tratamente), rezultatele obținute de noi, fiind în concordanță și cu un studiu realizat de Gilbert în anul 2016, în care se evidențiază efectul negativ al endometritelor din perioada postpartum, tradus printr-o rată de concepție scăzută la inseminare și avorturi între 28 și 60 zile după inseminare.

Pentru vacile diagnosticate cu boala chistică ovariană din grupul cu ovariopatii, analiza statistică a evidențiat două corelații semnificative între afecțiunile postpartum și 14 corelații între indicii reproductivi.

O importanță deosebită pentru studiul de față, au avut corelațiile obținute între tipul de fătare distocic și retenția placentară ($r = 0,460$), între retenția placentară și febra vituleră ($r = 0,414$) și între apariția semnelor estrale în decursul celor 60 zile postpartum și perioada de așteptare (fătare - 1 inseminare artificială) ($r = -0,687$), toate fiind înalt semnificative statistic ($p < 0,01$).

Pe lângă afecțiunile uterine și metabolice cunoscute (febra vituleră și cetoza), și cele ovariene pot perturba fertilitatea normală vacilor. Astfel de afecțiuni ovariene, cum este în cazul de față boala chistică ovariană, pot prin diverse mecanisme, să aibă un impact negativ asupra intervalului fătare - prima inseminare artificială, asupra șansei de a concepe la prima inseminare, a intervalului fătare - inseminarea artificială fecundă și asupra numărului de inseminări artificiale/ gestație. Aceste corelații susținute și de Bonneville-Hébert ș.a., care într-un studiu realizat în anul 2011 au obținut rezultate similare.

Apariția bolii chistice ovariene în contextul unor patologii uterine sau ai unor produși bacterieni, suprimă potrivit lui Opsomer ș.a. (2000); Sheldon ș.a. (2002), secreția pituitară de LH, perturbând creșterea și funcționarea normală ai foliculilor ovarieni și implicit ovulația.

Potrivit lui Bosu ș.a. (1987), apariția bolii chistice ovariene la vaci, este favorizată de infecțiile uterine care duc la creșterea secreției de cortizol și PGF2 α , ceea ce ar putea crește incidența acestei patologii.

Cercetările noastre conform cărora apariția bolii chistice ovariene poate fi asociată cu retenția placentară și tipul de fătare distocic, sunt similare cu cele obținute de Erb ș.a. (1985), care au găsit o asociere indirectă între apariția chisturilor ovariene la vaci și retenția placentară, mediată de endometrită.

Spre deosebire de studiul nostru, Gröhn ș.a. (2000), au raportat că apariția acestei afecțiuni este mai frecvent asociată cu nivelul producției de lapte, cu paritatea vacii sau cu sezonul de fătare, decât cu retenția placentară.

Referitor la grupul de vaci diagnosticate cu hipotrofie ovariană, statistica analitică a evidențiat mai multe corelații între patologiele din perioada postpartum, între indicii reproductivi și între toți parametri analizați, în mod similar cu restul corelațiilor prezentate anterior în studiul nostru.

Astfel, la vacile diagnosticate cu hipotrofie ovariană și care au avut ca formă de manifestare anestrul postpartum, statistica analitică a relevat doar trei corelații semnificative statistic pentru afecțiunile postpartum și 23 corelații semnificative statistic, pentru indicii reproductivi.

Retenția placentară s-a corelat pozitiv cu tipul de fătare distocic ($r = 0,469$), cu febra vituleră ($r = 0,570$), iar metrita s-a corelat pozitiv cu endometrita ($r = 0,426$), în mod similar cu vacile diagnosticate cu persistența corpului luteal.

Corelațiile obținute în studiul nostru între retenția placentară, parturiția distocică și febra vituleră, sunt susținute și de Amin ș.a. (2013), care afirmă că cei mai importanți factori de risc pentru retenția placentară sunt avorturile, parturițiile gemelare, distocia, inducerea parturiției cu PGF2 α , cezarienele și tulburările metabolice, în special febra vituleră.

Spre deosebire de vacile diagnosticate cu persistența corpului luteal, la care analiza statistică a evidențiat că retenția placentară influențează în sens negativ reluarea ciclității ovariene în decursul celor 60 zile postpartum, la cele diagnosticate cu boala chistică ovariană sau cu inactivitate ovariană, corelația obținută între acești doi parametri nu a fost semnificativă statistic.

Deși sezonul de fătare este menționat de alți autori (Gary ș.a., 1987; Paccard, 1981) ca având o mare importanță în explicarea afecțiunilor reproductive la vaci și în mod particular a sindromului de anestrul postpartum, în urma analizei statistice realizate, nu s-a obținut nicio corelație semnificativă din punct de vedere statistic, pentru studiu de față.

6.3 Concluzii parțiale

1. În urma studiului privind principalele afecțiuni ce generează sindromul de la anestru la vacile de lapte, putem afirma că performanța reproductivă a vacilor este afectată de afecțiunile postpartale, determinând scăderea numărului de produși de concepție, afectarea capacității productive a vacilor și creșterea șanselor de reformare ale acestora.

2. În urma analizei statistice, s-a observat că parturițiile distocice reprezintă factori predispozanți pentru apariția afecțiunilor postpartum (retenția placentară, febra vituleră, metrita, endometrita).

3. S-a evidențiat că retenția placentară secundară parturițiilor distocice, a reprezentat un factor predispozant pentru apariția endometritelor și a afecțiunilor metabolice (febra vituleră).

4. Prezența distociilor și a retențiilor placentare au contribuit la modificarea indicilor reproductivi (perioada de reproducere, service period, calving interval, creșterea perioadei de așteptare – fătare – prima inseminare artificială), determinând astfel întârzieri în instalarea de noi gestații.

5. Dintre afecțiunile postpartum urmărite, cele care au avut semnificație statistică pentru studiul nostru, au fost retenția anexelor fetale, metrita și endometrita, influențând în sens negativ reluarea ciclicității ovariene în decursul celor 60 de zile postpartum.

CAPITOLUL VII. CERCETĂRI PRIVIND DIAGNOSTICUL ECOGRAFIC ȘI TRATAMENTUL SINDROMULUI DE ANESTRU, LA VACILE DE LAPTE

CHAPTER VII. RESEARCH REGARDING ULTRASONOGRAPHIC DIAGNOSIS AND TREATMENT OF ANESTRUS SYNDROME IN DAIRY CATTLE

Este binecunoscut faptul că pentru o bună performanță reproductivă, în decursul primelor 80 - 85 de zile postpartum, vacile trebuie să-și reia ciclicitatea ovariană, să manifeste semne estrale și să stabilească o nouă gestație.

Pentru cazurile în care vacile nu reușesc să stabilească o nouă gestație într-un interval de timp ideal, examenele clinice completate cu cele complementare (diagnosticul ecografic), ajută la stabilirea unui diagnostic de certitudine și a unui tratament corespunzător patologiei existente.

În acest capitol, vom prezenta observații privind diagnosticul ecografic al ovaripatiilor la vacile de lapte, dar și evaluarea răspunsului la tratamentele aplicate la vacile diagnosticate cu anestrus postpartum.

7.1. Material și metodă

7.1.1. Observații privind diagnosticul ecografic al sindromului de anestrus, la vacile de lapte

Studiul a fost efectuat într-o fermă de bovine din regiunea de Est a României, cu un efectiv total de 450 de capete, în perioada februarie - septembrie 2016. Un număr total de 120 de vaci din rasele Holstein și Bălțată cu Negru Românească, au fost selectate pe perioada acestui studiu, în funcție de designul experimental pe care l-am abordat.

Sistemul de întreținere al vacilor a fost liber în padoc, cu spațiu de mișcare, de furajare și pat de ohihnă. Producția medie anuală de lapte a variat între 5500 - 6000 l/lactație/ an, mulsul s-a realizat automat în săli de muls tip brăduț, de două ori zi, dimineața și seara.

Vacile care nu au fost înregistrate ca având semne estrale evidente în primele 60 de zile postpartum, au fost examinate ginecologic (vaginoscopie și examinare transrectală) și ecografic cu sondă liniară de 5 MHz (Ecograf WED 3100V®) de două ori, la un interval de 10 zile distanță, pentru confirmarea diagnosticului de anestrus postpartum.

Vacile la care s-a constatat prezența unui corp luteal pe cel puțin unul dintre cele două ovare la oricare dintre cele două examinări, au fost încadrate în categoria vacilor cu estru liniștit.

Diagnosticul de corp luteal persistent a fost stabilit în urma examinării transrectale, completată cu cea ecografică, în urma căreia s-a observat prezența corpului luteal pe suprafața ovariană, însoțită de lipsa semnelor estrale, sau a unei gestații. De asemenea, prezența de conținut purulent la nivel uterin, asociată cu existența pe unul dintre ovare a unui corp luteal persistent, a fost diagnosticată ca fiind infecție uterină.

Cu boala chistică ovariană au fost diagnosticate vacile la care s-a constatat la ambele examinări prezența unor structuri foliculare sau luteale, cu un diametru de cel puțin 2 centimetri. De menționat este faptul că doar vacile diagnosticate în urma examenului ecografic cu chisturi luteale (cu grosimea peretelui chistului >3 cm), au fost incluse în studiul nostru.

Vacile care în decursul celor două examinări realizate la 10 zile distanță una față de cealaltă, au fost înregistrate ca având ovarele aproximativ de aceleași dimensiune, fără modificări evidente în structura foliculară, iar pe suprafața acestora nu s-a putut palpa un corp luteal sau un folicul, au fost încadrate în categoria vacilor cu hipotrofie ovariană.

7.1.2. Observații privind evaluarea răspunsului la tratamentele hormonale aplicate la vacile diagnosticate cu anestru postpartum

Studiul a fost realizat pe același efectiv de animale și a avut în vedere evaluarea răspunsului la tratamentele aplicate vacilor cu anestru postpartum. După stabilirea diagnosticului de certitudine cu ajutorul examenului ecografic, s-a stabilit un protocol de tratament corespunzător fiecărei patologii prezentate mai sus.

Protocolul de tratament: un număr total de 120 de vaci au fost selectate pentru realizarea acestui studiu. Animalele au fost divizate în 6 loturi experimentale, a câte 20 de vaci fiecare, după cum urmează:

Lotul 1 (L1): lotul martor (vacii diagnosticate cu anestru postpartum, la care nu s-a administrat niciun fel de tratament);

Lotul 2 (L2): vacii diagnosticate cu estru liniștit (timp de 18 - 21 zile, vacile au fost monitorizate de două ori pe zi, pentru observarea semnelor estrale și inseminarea artificială la observarea semnelor estrale);

Lotul 3 (L3): vacii diagnosticate cu corp luteal persistent (o doză de PGF2α - Estrumate 2 ml/i.m., urmat de inseminarea artificială la apariția semnelor estrale);

Lotul 4 (L4): vacii diagnosticate cu corp luteal persistent (o doză de PGF2α - Estrumate 2 ml/i.m., urmat de inseminarea artificială la 70 și 90 de ore, cu o doză de GnRH la prima inseminare artificială);

Lotul 5 (L5): vaci diagnosticate cu chisturi luteale (o doză de PGF2 α - Estrumate 2 ml/i.m., urmat de inseminarea artificială la observarea semnelor estrale);

Lotul 6 (L6): vaci diagnosticate cu hipotrofie ovariană (administrarea unei diete echilibrate, urmată de inseminarea artificială la apariția semnelor estrale).

Toate vacile tratate au fost examinate pentru stabilirea diagnosticului de gestație cu ajutorul ecografiei transretale, utilizând o sondă liniară de 5 MHz (Ecograf WED 3100V®) în ziua 35 $\pm$ 3 de la realizarea inseminărilor artificiale.

7.2. Rezultate și discuții

7.2.1. Observații privind diagnosticul ecografic al sindromului de anestru, la vacile de lapte

În acest subcapitol vom prezenta cazuri clinice concrete în ceea ce privește aspectul ecografic în diverse condiții patologice ale tractului genital femel, iar observațiile se vor referi la animalele incluse în studiul privind evaluarea răspunsului la tratamentele hormonale aplicate la vacile diagnosticate cu anestru postpartum.

Pe perioada celor 8 luni de studiu în cadrul fermei unde s-au realizat investigațiile, s-au înregistrat mai multe tipuri de patologii genitale: 35 cazuri de endometrită (19,1%), 12 cazuri de metrită acută (6,5%), 26 chisturi foliculare (14,2%), 21 chisturi luteale (11,5%), 47 cazuri de corp luteal persistent (23%), hipotrofia ovariană a fost diagnosticată la 25 vaci (13,7%), iar estru liniștit la 22 vaci (12%), însumând astfel un total de 183 de afecțiuni utero-ovariene (fig. 7.1).

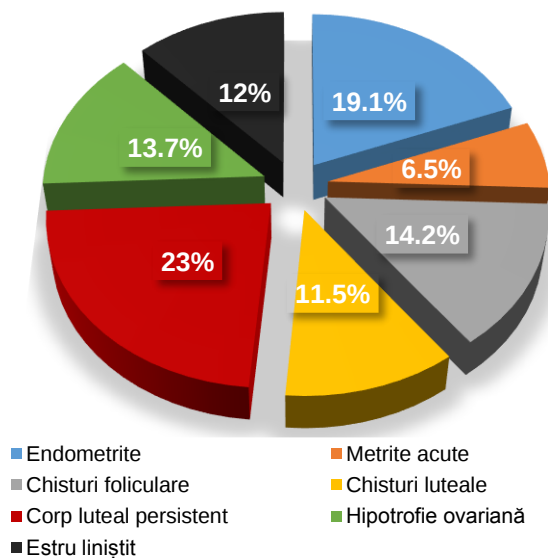


Fig. 7.1 Frecvența patologiilor genitale înregistrate în ferma, în perioada luată în studiu

Fig. 7.1 Genital disorders frequency recorded within farm, during the study period

Din totalul de vaci examinate de-a lungul celor 8 luni de studiu, 40,7% dintre acestea, au prezentat cel puțin o patologie din sfera genitală, rezultatele noastre fiind similare cu cele obținute de Tesfaye care a raportat în cadrul unui studiu realizat în anul 2013 o frecvență a afecțiunilor reproductive de 40,25%.

De asemenea, Hadush ș.a. (2013) au raportat o frecvență a acestor patologii de 44,3%, rezultatele obținute în cadrul studiului nostru încadrându-se în acest fel în cele menționate de literatura de specialitate.

În ceea ce privește diagnosticul ecografic al fiecări patologii genitale ce are ca formă de manifestare anestrul, vom acorda o atenție deosebită doar celor pe care le-am urmărit și în cadrul designului experimental prezentat anterior (corp luteal persistent, chisturi luteale, hipotrofie ovariană și estru liniștit).

Dintre toate patologiiile care au evoluat în perioada februarie - septembrie, endometrita și persistența corpului luteal au fost cel mai frecvent diagnosticate. Prezența lichidului anecogen în lumenul uterin, însoțit de particule ecogene cu aspect de fulgi de zăpadă, îngroșarea peretelui uterin și prezența unui corp luteal persistent pe unul dintre ovare, ne-au orientat spre stabilirea diagnosticului de endometrită (fig.7.2).

Astfel de aspecte ecografice sunt similare cu cele raportate și de alți autori (Kasaimanickam ș.a., 2004; Lenz ș.a., 2007, Barunda ș.a., 2008; Kumar ș.a., 2009). Prevalența endometritei raportată la totalul afecțiunilor înregistrate, a fost de 19,1% (35 cazuri).

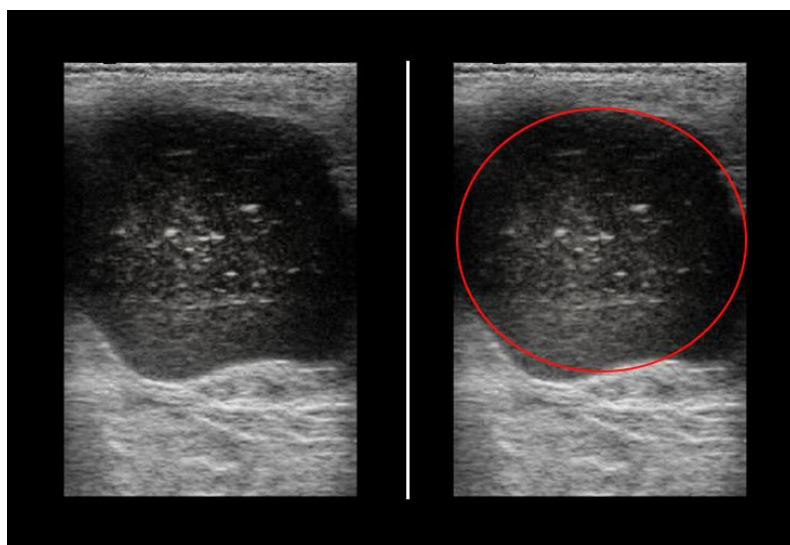


Fig. 7.2 Aspectul ecografic al lumenului uterin la o vacă cu endometrită (foto original)

Fig. 7.2 Ultrasound aspect of a uterine lumen from a cow with endometritis
(original photo)

Considerate ca fiind vaci cu estru liniștit, au fost acele animale la care s-a identificat prezența unui corp luteal pe orice dintre cele două ovare, la oricare dintre cele două examinări ecografice realizate pentru lotul de animale **L2**.

Prevalența vacilor cu estru liniștit raportată la numărul total de animale diagnosticate cu afecțiuni utero-ovariene (183 vaci), a fost de 12,1% (22 vaci), rezultate susținute și de Zdunczyk ș.a. (2005), care afirmă că prevalența estrului liniștit la vaci variază între 10 – 40%.

Potrivit lui Zdunczyk ș.a. (2005), estrul liniștit apare ca urmare a unei proaste detecții a semnelor estrale, poate fi de asemenea influențat de anumiți factori nutriționali, de boli metabolice, condiții de întreținere și producție de lapte.

În ceea ce privește diagnosticarea și aspectul ecografic al corpului luteal persistent diagnosticat la vacile tratate fie cu o doză de PGF2 α , fie cu PGF2 α urmată de inseminarea artificială la 70 și 90 de ore, cu o doză de GnRH la prima inseminare artificială (**L3**, **L4**), existența acestei patologii a fost identificată sub aspectul unor zone distincte ecogene în stroma ovariană, cu o dimensiune mai mare de 25 mm.

Într-o proporție destul de mare, prezența corpului luteal persistent a fost identificată în endometrite și piometru, apariția acestui tip de anestru ca patologie de sine stătătoare, fiind identificată cu o frecvență mai redusă (fig.7.3).

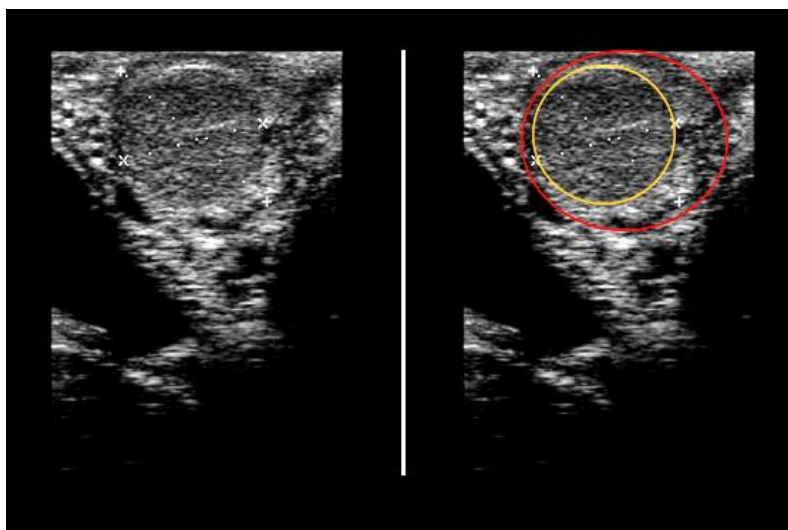


Fig. 7.3 Aspectul ecografic al corpului luteal persistent la vacă (foto original)

Fig. 7.3 Ultrasound aspect of a persistent corpus luteum in cows (original photo)

Potrivit lui Peter (2009), un factor care contribuie la peristența corpului luteal la vaci, îl reprezintă lipsa unui folicul dominant estrogenic la timpul așteptat al regresiei luteale, justificând astfel, existența corpului luteal ca patologie de sine stătătoare în cadrul studiului nostru.

De asemenea, Thatcher (1989) și Knickerbocker (1986), menționează că estradiolul din foliculul dominant are rolul de a induce formarea de receptori uterini de oxitocină, care ajută la eliberarea pulsatilă de PGF2 α . Astfel, lipsa unui folicul dominant estrogenic ajută la menținerea acestei condiții patologice.

După cum a menționat și Opsomer (2000) în cadrul studiului său, paritatea, distociile, stresul caloric, afecțiunile din prima lună postpartum, pot prelungi durata de viață a corpului luteal persistent. Pe lângă factorii menționați anterior, infecțiile uterine și piometrul pot prelungi durata de viață a corpului luteal (Mateus, 2002; Sheldon, 2006), constatări care susțin în acest fel și studiul de față.

Boala chistică ovariană (chisturi foliculare și chisturi luteale) a fost diagnosticată cu ajutorul examinării ecografice la 47 de vaci, însă în studiul de față ne vom referi strict la cele cu chisturi luteale (fig. 7.4), la care s-au administrat câte o doză de PGF2 α (L5), urmată de inseminarea artificială la apariția semnelor estrale (tratament administrat ca urmare a designului experimental prezentat mai sus).

În cazul bolii chistice ovariene, care cuprinde atât chisturile luteale, cât și cele foliculare, o frecvență mai mare au avut-o chisturile foliculare (14,2% din totalul afecțiunilor genitale înregistrate), fapt consemnat și de alți autori (Durocher ș.a., 2005; Gaur ș.a., 2007). În studiul de față, chisturile luteale au fost diagnosticate doar la 11,5% dintre vacile cu patologii genitale.

Diametrele chisturilor ovariene diagnosticate în studiul nostru au variat între 29 mm și 40 mm, diferențierea între cele două patologii realizându-se pe baza grosimii peretelui chisturilor (între 3 mm și 9 mm).



Fig. 7.4 Aspect ecografic al chistului luteinic la vacă (foto original)

Fig. 7.4 Ultrasound aspect of a luteal cyst in cows (original photo)

Astfel, a fost considerat chist luteinic, acea formațiune care are un diametru mai mare de 25 mm, al cărui perete are o grosime mai mare mai mare de 3 mm, cu o zonă gri ecogenică în jurul chistului și al cărui prezență a fost identificată la ambele examinări ecografice (fig. 7.4).

Rosenberg (2010), afirmă că boala chistică ovariană este clasificată ca fiind cea mai comună patologie endocrină la vacile de lapte, având o frecvență cuprinsă între 1 și 30%. În studiul nostru boala chistică ovariană are o prevalență de 10,4%, încadrându-se astfel în rezultatele specificate în literatura de specialitate.

Potrivit altor studii, factorii asociați cu apariția chisturilor ovariene includ moștenirea genetică a vacii, condiția corporală, stresul, dar și factorii de mediu care cuprind managementul furajării și tipul de întreținere (Nelson ș.a., 2010; Stančić ș.a., 2007).

Pentru vacile din lotul 6 (**L6**) încadrate în categoria animalelor cu hipotrofie ovariană, lot de animale la care designul de tratament a constat în administrarea unei diete echilibrate, urmată de inseminarea artificială la apariția semnelor estrale, stabilirea diagnosticului de certitudine s-a realizat tot cu ajutorul ecografiei transrectale.

Astfel, au fost încadrate în categoria vacilor cu hipotrofie ovariană, animalele la care în cursul celor două examinări ecografice ale ovarelor, nu au fost evidențiate modificări importante în structura foliculară, prezența caracteristică a unui corp luteal sau a unei structuri foliculare chistice (fig.7.5).

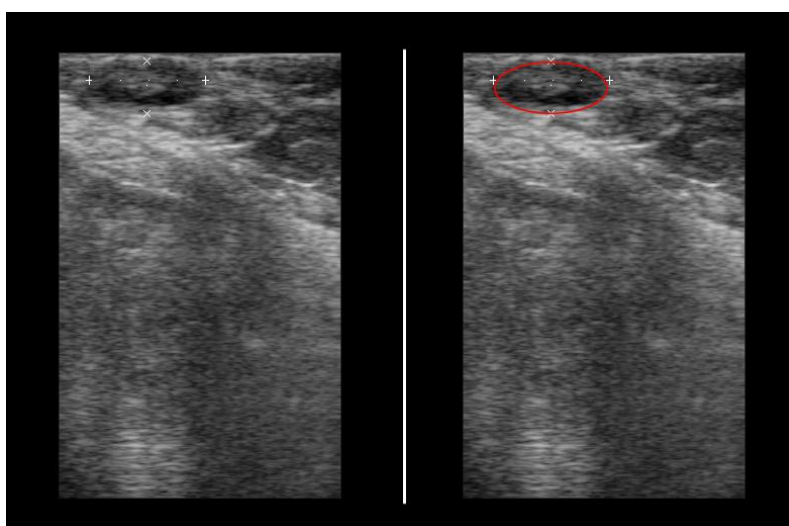


Fig. 7.5 Aspect ecografic al hipotrofiei ovariene la vacă (foto original)

Fig. 7.5 Ultrasound aspect of ovarian inactivity in cows (original photo)

În studiul nostru, această patologie a fost identificată la 5,6% (25 vaci) din totalul animalelor luate în studiu. Procentul înregistrat în studiul nostru se încadrează în datele menționate de literatura de specialitate potrivit căreia, această patologie este de

așteptat să apară la mai puțin de 10% din populația vacilor pentru lapte în perioada postpartum într-un efectiv normal (Markusfeld, 1987).

La examinarea ecografică, stroma ovariană a vacilor cu hipotrofie ovariană a fost înregistrată ca având o ecogenitate omogenă, iar prezența structurilor asociate cu activitatea ciclică ovariană (foliculi maturi, corpi luteali) nu au putut fi evidențiate.

Deși examinarea transrectală este metoda cea mai frecvent utilizată pentru supravegherea reproductivă a vacilor, capacitatea de colectare a datelor cu ajutorul ecografiei transrectale depășește cu mult examinarea manuală a tractului reproductiv.

În ceea ce privește utilizarea ecografiei transrectale pentru diagnosticarea chisturilor și ale afecțiunilor ovariene în general, Hanzen ș.a. (2000) au raportat că utilizarea acestei metode de diagnostic pentru identificarea și diferențierea tipurilor de chisturi ovariene are o sensibilitate și o specificitate mult mai mare decât în cazul diagnosticării prin metoda palpării manuale transrectale (66% comparativ cu 75% și 85%).

Similar unui studiu realizat de Hanzen ș.a. (2000), în studiul nostru utilizarea ecografiei transrectale s-a dovedit a avea într-adevăr sensibilitate și specificitate mare de diagnostic în cazul afecțiunilor urmărite (endometrită, corp luteal persistent, boala chistică ovariană, hipotrofie ovariană).

7.2.2 Observații privind evaluarea răspunsului la tratamentele hormonale aplicate la vacile diagnosticate cu anestru postpartum

Așa cum am menționat anterior la **Material și metodă**, un număr total de 120 de vaci au fost luate în studiu (6 loturi experimentale), iar acest subcapitol va cuprinde rezultatele tratamentelor hormonale aplicate la vacile diagnosticate cu anestru postpartum.

Răspunsurile pozitive la tratamentele realizate au fost definite prin apariția semnelor estrale și stabilirea ulterioară cu ajutorul examenului ecografic a gestației la vacile incluse în acest studiu. Lipsa semnelor estrale posttratament sau a unei gestații până în momentul încheierii studiului, au fost considerate ca fiind răspunsuri negative la tratamentele efectuate.

În tabelele 7.1 și 7.2 sunt prezentate date cu privire la eficacitatea tratamentelor administrate la vacile din loturile luate în studiu (câte vaci au prezentat semne estrale, numărul mediu de zile necesar pentru apariția estrului, procentul animalelor diagnosticate ca fiind gestante în urma inseminărilor artificiale, indicii de gestație și ratele de concepție).

După cum am menționat anterior în studiul nostru, estrul liniștit a fost diagnosticat în 22 de cazuri, chisturile luteale în 21, corpul luteal persistent a fost diagnosticat la 42 de vaci, iar hipotrofia ovariană la 25 (fig.7.1).

Studiul de față evidențiază că pentru perioada studiată (8 luni), pentru aproximativ 5% din totalul animalelor luate în studiu (450 vaci), estrul a rămas nedetectat clinic și a fost confirmat doar cu ajutorul ecografiei transrectale.

Tabelul 7.1. Răspunsul la tratamentul administrat vacilor din loturile L2 - L6
Table 7.1. Treatment response in cows within L2 - L6 groups

Lot de animale	Tip de tratament administrat	Vaci tratate		Vaci inseminate artificial		Vaci gestante	
		Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
Lot martor (L1)	Nu s-a administrat niciun tratament	20	100	0	0	0	0
Estru liniștit (L2)	Monitorizare + I.A. la observarea semnelor estrale	20	100	12	60	7	35
Corp luteal persistent (L3)	PGF2α + I.A. la observarea semnelor estrale	20	100	15	75	9	45
Corp luteal persistent (L4)	PGF2α + I.A. la 70 și 90 ore + GnRH la 11.A.	20	100	20	100	18	90
Chist luteal (L5)	PGF2α + I.A. la observarea semnelor estrale	20	100	17	85	14	70
Hipotrofie ovariană (L6)	Dietă echilibrată + I.A. la observarea semnelor estrale	20	100	6	30	4	20

Tabelul 7.2. Evaluarea apariției semnelor estrale și ai indicilor reproductivi, la vacile din loturile luate în studiu

Table 7.2. Estrus signs and reproductive indices evaluation within cows taken under study

Lot de animale	Răspunsul la tratament	Apariția estrului (număr mediu de zile)	Indice de gestație (G%)	Rata de concepție (Rc%)
Lot martor (L1)	-	-	-	-
Estru liniștit (L2)	12 (60%)	20,1	58,3	33,3
Corp luteal persistent (L3)	15 (75%)	3,26	60	26,7
Corp luteal persistent (L4)	100 (100%)	-	90	55
Chist luteal (L5)	17 (85%)	4,11	82,4	41,2
Hipotrofie ovariană (L6)	6 (30%)	30	66,7	33,3

Potrivit lui Shamsuddin ș.a. (2001), estrul liniștit poate rămâne nedetectat până la 40%, producând astfel pierderi însemnate fermierilor.

Într-un studiu realizat de Opsomer (2000), este subliniat faptul că incidența crescută a anestrului postpartum la vacile de lapte (până la 62%), este strâns legată de o slabă manifestare a căldurilor, dar și de o proastă detecție a semnelor estrale de către medicii veterinari din ferme.

Pentru vacile din lotul **L2**, s-a observat că o monitorizare atentă a animalelor, duce la o bună detecție a semnelor estrale. Astfel, din cele 20 de vaci urmărite, 12 (60%) au prezentat semne estrale și au fost inseminate artificial, iar 7 dintre acestea (35%) au fost diagnosticate ca fiind gestante, fără a fi nevoie de administrarea adițională a tratamentelor hormonale.

Numărul mediu de zile necesar apariției semnelor estrale înregistrat la grupul **L2** a fost de 20,1 zile, indicele de gestație a avut o valoare de 58,3%, iar rata de concepție de 33,3% (tabelul 7.2).

În ceea ce privește rata de detecție a semnelor estrale pentru lotul **L2**, rezultatele noastre (60%) sunt mai bune decât cele obținute de Cartmill ș.a. (2001) (rată de detecție de 42% pentru vacile de lapte), decât Ahuja ș.a. (2005) (rate de detecție de 20% pentru vaci metisate), dar mai slabe decât cele obținute de Kojima ș.a. (2000), care pentru vacile de carne au obținut rate de detecție ale semnelor estrale de până la 76%.

O slabă detecție a semnelor estrale la vaci poate fi influențată și de problemele de manageriere ale efectivului de animale, cum ar fi o lipsă de cunoaștere a semnelor primare și secundare de estru, prea puține observații pe zi sau prea puțin timp acordat pentru observarea căldurilor (Van Eerdenburg ș.a., 1996; Roelofs ș.a., 2010).

Pe lângă factorii menționați anterior, slaba manifestare a semnelor estrale la vacile de lapte mai poate fi influențată de supraaglomerarea adăposturilor, precum și de suprafețele alunecoase ale acestora, inhibând în acest caz manifestarea semnelor de călduri (Leonard ș.a., 1994; Roelofs ș.a., 2010).

Spre deosebire de lotul **L4** (PGF2 α + I.A. la 70 și 90 ore + GnRH la 11.A.), la care răspunsul la tratament a apărut la toate vacile tratate (20), pentru lotul **L3** (PGF2 α + I.A. la observarea semnelor estrale), răspunsul la tratamentul administrat a fost înregistrat la un număr de doar 15 vaci (75%).

Pentru lotul **L3** semnele estrale au apărut într-un număr mediu de 3,26 zile, iar dintre acestea, doar 9 (45%) au fost diagnosticate ca fiind gestante. Pentru același lot de animale indicele de gestație a avut o valoare de 60%, iar rata de concepție o valoare de 26,7% (tabelul 7.2).

La lotul **L4**, 18 (90%) dintre cele 20 de vaci au fost diagnosticate gestante în urma tratamentului efectuat, iar indicele de gestație și rata de concepție au avut valori de 90% respectiv 55% (tabelul 7.2).

Spre deosebire de alte studii în care autorii nu au identificat diferențe semnificative ale ratei de concepție pentru grupurile de vaci diagnosticate cu persistența corpului luteal și tratate cu PgF2 α (**L3**) (Repasi ș.a., 2005; Levy ș.a., 2006; Wenzinger ș.a., 2012), în studiul nostru ratele de concepție au diferit semnificativ în favoarea tratamentului cu PgF2 α și GnRH.

La vacile din lotul **L5** diagnosticate cu chisturi luteale și tratate cu PGF2 α + I.A. la observarea semnelor estrale, din cele 20 de vaci tratate, 85% (17) au răspuns pozitiv la tratament, iar gestante au fost diagnosticate doar 70% (14 vaci).

Rezultatele obținute pentru lotul **L5**, sunt în concordanță cu literatura de specialitate, în care se menționează că administrarea unei doze unice de PGF2 α este cea mai eficientă metodă de tratament pentru chisturile luteale.

Într-un studiu realizat de Brito ș.a. (2004), administrarea unei doze unice de PGF2 α la vacile diagnosticate cu chisturi luteale, a dat rezultate pozitive pentru 75% dintre acestea în primele 7 zile de la tratament, iar rata de gestație a fost de 66%. Deși rata de concepție pentru lotul **L5** (41,2%) este mai mică decât cea obținută de Brito ș.a. (2004), putem considera rezultatele noastre ca fiind acceptabile.

Khan (2010), recomandă administrarea unei doze luteolitice de PGF2 α ca tratament ideal în boala chistică ovariană, cu apariția semnelor estrale în decursul a 3 - 5 zile, atâta timp cât animalul a fost diagnosticat corect. În cazul studiului nostru, pentru lotul de vaci diagnosticate cu chisturi luteale și tratate cu PGF2 α , semnele estrale au apărut în medie în 4,11 zile, iar indicele de gestație a avut o valoare medie de 82,4% (tabelul 7.2).

Pentru vacile din lotul **L6** diagnosticate cu hipotrofie ovariană, reechilibrarea dietei a dat rezultate doar pentru 30% (6 vaci) din cele 20 incluse în acest lot. La aceste vaci semnele estrale au apărut în medie în 30 de zile de la începerea tratamentului, indicele de gestație a avut o valoare de 66,7%, iar rata de concepție o valoare de 33,3% (tabelul 7.2).

Potrivit lui Sabo ș.a. (2008), o condiție corporală nesatisfăcătoare poate fi restabilită printr-o reechilibrare nutrițională, cu restabilirea ulterioară a activității ovariene normale. Condițiile corporale cuprinse între <1,5 și >4 vor reduce invariabil performanța reproductivă a vacilor, iar din acest motiv menținerea unei diete echilibrate este imperios necesară.

Deși în studiul nostru, reechilibrarea nutrițională a dat rezultate la doar 30% dintre vacile cu hipotrofie ovariană, trebuie avut în vedere faptul că pentru o bună funcționare a sistemului reproducător o dietă echilibrată este importantă.

7.3. Concluzii parțiale

1. Pe perioada studiului privind diagnosticul ecografic și tratamentul sindromului de anestru la vacile de lapte, s-au înregistrat mai multe tipuri de patologii genitale: 35 cazuri de endometrită (19,1%), 12 cazuri de metrită acută (6,5%), 26 chisturi foliculare (14,2%), 21 chisturi luteale (11,5%), 47 cazuri de corp luteal persistent (23%), hipotrofia ovariană a fost diagnosticată la 25 vaci (13,7%), iar estru liniștit la 22 vaci (12%), însumând astfel un total de 183 de afecțiuni utero-ovariene.

2. Prevalența vacilor cu estru liniștit raportată la numărul total de animale diagnosticate cu afecțiuni utero-ovariene (183 vaci), a fost de 12% (22 vaci), iar boala chistică ovariană (chisturi foliculare și chisturi luteale) a fost diagnosticată cu ajutorul examinării ecografice la 23% dintre vaci (47).

4. Hipotrofia ovariană a fost identificată la 13,7% (25 vaci) din totalul animalelor cu afecțiuni genitale.

6. Utilizarea ecografiei transrectale în scop de diagnostic pentru identificarea și diferențierea tipurilor de afecțiuni ovariene are o sensibilitate și o specificitate mult mai mare decât în cazul diagnosticării prin metoda palpării manuale transrectale ale acelorași afecțiuni.

7. Dintre cele 20 de vaci diagnosticate cu estru liniștit (lotul **L2**), 12 (60%) au prezentat semne estrale și au fost inseminate artificial, iar 7 dintre acestea (35%) au fost diagnosticate ca fiind gestante, fără a fi nevoie de administrarea adițională a tratamentelor hormonale.

8. Pentru vacile din lotul **L3** (diagnosticate cu corp luteal persistent și tratate cu PGF2 α), semnele estrale au apărut la 15 (75%) din 20 de vaci, iar dintre acestea, doar 9 (45%) au fost diagnosticate ca fiind gestante.

9. La lotul **L4** (vacii diagnosticate cu corp luteal persistent și tratate cu PGF2 α + o doză de GnRH la 11.A.), răspunsul la tratament a apărut la toate vacile tratate (20), iar 18 (90%) dintre cele 20 au fost diagnosticate ca fiind gestante în urma tratamentului efectuat.

10. La vacile din lotul **L5** (diagnosticate cu chisturi luteale și tratate cu PGF2 α + I.A. la observarea semnelor estrale), din cele 20 de vaci tratate, 17 (85%) au răspuns pozitiv la tratament, iar gestante au fost diagnosticate doar 14 vaci (70%).

11. Pentru vacile diagnosticate cu hipotrofie ovariană (lotul **L6**), reechilibrarea dietei a dat rezultate doar pentru 6 vaci (30%) din cele 20 incluse în studiu, iar gestante au fost diagnosticate doar 4 (20%).

CAPITOLUL VIII. CERCETĂRI PRIVIND IMPLICAȚIILE ECONOMICE ȘI IMPLEMENTAREA UNEI MĂSURI MODERNE DE PREVENIRE A SINDROMULUI DE ANESTRU, LA VACILE DE LAPTE

CHAPTER VIII. RESEARCHES ON ECONOMIC IMPLICATIONS AND IMPLEMENTATION OF A MODERN MEASURE TO PREVENT ANESTRUS SYNDROME IN DAIRY CATTLE

Afecțiunile care generează instalarea stărilor de infecunditate, afectează profitabilitatea fermei prin cheltuieli suplimentare reprezentate de tratarea animalelor bolnave sau infecunde, întreținerea și îngrijirea lor, precum și nerealizarea veniturilor estimate de către fermier, din cauza prelungirii calving intervalului, a nerealizării numărului ideal de vițe la nivel de întreg efectivul, sau a nerealizării producției de lapte.

Scopul acestui studiu a fost de a estima pierderile economice cauzate de scăderea eficienței reproductive în efectivul studiat și impactul acestor pierderi asupra nivelului de venituri ale fermierilor, în perioada luată în studiu (ianuarie 2016 – decembrie 2016).

De asemenea, s-a urmărit realizarea unei aplicații de smartphone, care să permită medicilor veterinari și fermierilor o mai bună manageriere din punct de vedere reproductiv al efectivului de animale.

Acestă aplicație de mobil permite utilizatorilor să aibă acces la toate informațiile despre vacile din ferma respectivă, inclusiv notificări primite pe telefonul mobil pentru vacile care în perioada imediat următoare vor prezenta semne estrale, împiedicând astfel creșterea procentului de vaci cu anestrus de detecție.

8.1. Material și metodă

Studiul a fost realizat în cadrul unei ferme de vaci din rasele Bălțată cu Negru Românească și Holstein, unitate localizată în zona de Est a României. Toate datele necesare studiului de față, au provenit de la 341 de vaci (78 primipare și 263 multipare), care au făcut în perioada ianuarie 2016 - decembrie 2016.

Acest efectiv a fost inclus și într-un studiu anterior, urmărindu-se maniera în care anumite patologii din perioada postpartum influențează în sens negativ performanța reproductivă a vacilor.

Întreținerea animalelor s-a realizat în adăposturi semideschise, cu alei centrale de furajare, iar mulsul s-a realizat automat, în săli de tip paralelă, de două ori pe zi (dimineața și seara). Producția medie anuală de lapte/vacă pentru perioada luată în studiu a fost de 6817 litri, iar media anuală a ratei de sacrificare a fost de 9,4%.

Toate vacile au fost inseminate artificial, stabilirea diagnosticelor afecțiunilor utero-ovariene realizându-se cu ajutorul examinărilor transrectale completate cu cele ecografice, iar perioada de așteptare voluntară a fost stabilită la 60 zile postpartum.

8.2. Rezultate și discuții

Inițial, rezultatele și discuțiile se vor referi la modul cum parametrii și indicii reproductivi sunt influențați în sens negativ de depășirea intervalului ideal de 80 de zile stabilit pentru obținerea unei noi gestații, iar ulterior, ne vom rezuma la studiul privind implicațiile economice ale sindromului de anestr.

Astfel, în tabelul 8.1 sunt prezentate atât numeric cât și procentual, valorile medii ale principalilor indici reproductivi care au făcut obiectul studiului nostru, în funcție de numărul mediu de lactație și de categoria în care au fost încadrate animalele:

- vaci care în decursul primelor 80 zile postpartum au fost diagnosticate ca fiind gestante (226 vaci);
- vaci care au depășit intervalul ideal de 80 zile cuprins între parturiție și instalarea unei noi gestații (115 vaci).

Centralizarea datelor pentru întreg efectivul de animale luat în studiu, a evidențiat mai multe diferențe sesizabile între cele 5 loturi structurate de noi, în funcție de starea fiziologică a vacilor.

Astfel, la grupul de vaci **E1** (tabelul 8.1), toți indicii reproductivi s-au încadrat în valorile normale ale speciei, având în vedere faptul că aceste animale sunt cele care și-au reluat ciclicitatea ovariană în decursul perioadei de așteptare voluntară și au reușit să stabilească o nouă gestație în primele 80 de zile postpartum.

De menționat este și faptul că spre deosebire restul vacilor din grupurile **E2 - E5**, acestea au și o medie de vârstă mult mai mică, putând afirma că acesta este un lot tânăr de animale, cu o performanță reproductivă ideală.

În continuare, stabilirea zilelor de infecunditate/sterilitate la nivelul întregului efectiv s-a realizat luând în calcul vacile infecunde, adică toate acele animale care au depășit intervalul de 80 de zile ideal, cuprins între parturiție și instalarea unei noi gestații (Runceanu, 1979).

Astfel, vacile care au fost diagnosticate ca fiind infecunde, se împart în patru categorii (tabelul 8.2), în funcție de numărul zilelor de infecunditate. Pentru fiecare categorie în parte, se aplică un indice de infecunditate, reprezentat de numărul mediu de zile de infecunditate stabilit pentru intervalul respectiv de timp, iar în final se calculează numărul total de zile infecunde (Pronin, 1971).

Tabelul 8.1. Valorile medii ale indicilor reproductivi, atât la vacile diagnosticate gestante în primele 80 zile postpartum (E1), cât și la cele infecunde (E2, E3, E4, E5)

Table 8.1. Mean values of reproductive indices, both in pregnant in the first 80 days postpartum (E1) and infecund cows (E2, E3, E4, E5)

		E1	E2	E3	E4	E5
Număr de animale/ lot studiat	Valori ideale	226 vaci	58 vaci	34 vaci	11 vaci	12 vaci
Media numărului de lactații		2,4	3,1	3,8	4,1	4,7
PA (zile)	60	55,9	82	82,8	87,3	84,7
PR (zile)	0	1,2	11,8	42,9	65,5	124,9
SP (zile)	80 - 100	56,3	93,72	125,7	152,9	209,7
CI (zile)	370 - 375	338	375,7	407,8	432,9	490,8
Iî	1,5 - 2	1,25	1,71	3,28	5,85	3
G (%)	85 - 95	97,8	91,3	82,3	63,6	33,3
Rc (%)	50 - 70	76,5	55,1	11,8	-	8,3
F (%)	98 - 100	100	97,1	89,5	84,3	74,3
Nr. mediu de tratamente	0	0,4	2,05	3,11	3,45	5,75
Ref. (%)	0	1,77	15,5	20,6	36,4	66,7

Legendă: E1 – vaci care au fost diagnosticate gestante în decursul primelor 80 zile postpartum; E2 – vaci cu un număr de zile infecunde cuprins între 1 – 30; E3 - vaci cu un număr de zile infecunde cuprins între 31 – 60; E4 - vaci cu un număr de zile infecunde cuprins între 61 – 90; E5 - vaci cu un număr de zile infecunde mai mare de 91; PA – perioadă de așteptare voluntară; PR – perioadă de reproducere; SP – service period; CI – calving interval; Iî – indice de însămânțare; G% - indice de gestație; Rc% - rata de concepție; F% - indice de fertilitate; Ref.% – procentul de vaci reformate.

În funcție de numărul de zile de infecunditate (tabelul 8.2), s-a observat că indicii reproductivi se modifică în sens negativ odată cu creșterea zilelor de infecunditate. Spre exemplu, în cazul vacilor din grupul **E2** (vacii cu un număr de zile de infecunditate cuprins între 1 - 30), media calving intervalului este de 375,7 zile, valoare care va crește până la 490,8 zile, așa cum este cazul vacilor din grupul **E5**.

De asemenea, s-a constatat că o creștere a numărului de zile de infecunditate la vacile din grupurile studiate, este asociată atât cu valori medii peste cele ideale ale speciei în ceea ce privește evoluția indicilor reproductivi, cât și cu creșterea numărului de lactații.

Tabelul 8.2. Numărul total de zile de infecunditate/sterilitate în cadrul fermei pe perioada unui an calendaristic
 Table 8.2. Total days number of infecundity/sterility within farm during a calendaristic year

Categorie	Număr vaci infecunde/sterile	Indice de infecunditate/sterilitate pe vacă	Total zile infecunde/sterile
1 - 30 zile (E2)	58	12,7	738
31 - 60 zile (E3)	34	44,7	534
61- 90 zile (E4)	11	71,9	791
peste 90 zile (E5)	12	128,6	1544
Total zile infecunditate/ sterilitate = 3607			

Legendă: E1 – vaci care au fost diagnosticate gestante în decursul primelor 80 zile postpartum; E2 – vaci cu un număr de zile infecunde cuprins între 1 – 30; E3 - vaci cu un număr de zile infecunde cuprins între 31 – 60; E4 - vaci cu un număr de zile infecunde cuprins între 61 – 90; E5 - vaci cu un număr de zile infecunde mai mare de 91.

Rezultatele obținute de noi în ceea ce privește valoarea medie a perioadei de așteptare pentru **E2, E3, E4, E5**, se încadrează în valorile medii obținute de Ghoribi (2000) (între 62 – 89 zile) și Bouzebda ș.a. (2006). Cel din urmă a obținut valori medii ale aceluiași parametru urmărit cuprinse între 59 și 88 zile. Dintre toate grupurile de vaci infecunde, cea mai mare valoare medie a perioadei de așteptare a fost înregistrată pentru cele din grupul **E3** (87,3 zile).

Potrivit lui Drugociu ș.a. (2015), prelungirea perioadei de așteptare peste cele 60 de zile postpartum la vacile de lapte, arată o lipsă de atenție acordată monitorizării involuției uterine, dar și a reluării activității ovariene. Tot Drugociu ș.a. (2015) menționează și de observarea îndeaproape a vacilor în ceea ce privește manifestarea semnelor estrale, cu scopul de a reduce durata medie a perioadei de așteptare postpartum.

Pentru perioada de reproducere, service period și calving interval, cele mai crescute valori medii au fost înregistrate la vacile din grupul **E5** (vacii cu un număr de zile infecunde mai mare de 91). Un număr mare de zile de infecunditate afectează în mod vizibil economia fermei, având în vedere că în fermele de vaci specializate în producția de lapte, fertilitatea animalelor are o importanță economică majoră.

Potrivit lui Drugociu ș.a. (2015), pentru obținerea unui profit maxim în fermele de vaci, calving intervalul nu trebuie să depășească 365 de zile, este necesară o reluare precoce a activității ovariene, o detecție eficientă a semnelor estrale și obținerea unei rate de concepție crescute.

Valorile medii crescute ale celor trei parametri reproductivi menționați anterior și evidențiate în tabelul de mai sus, evidențiază faptul că în studiul de față, neobservarea semnelor estrale (în unele cazuri) și eșecul de a obține o gestație în

primele 60 - 80 de zile postpartum, reprezintă încă o reală problemă în efectivele de vaci.

Creșterea perioadei de așteptare, implicit a service periodului și a calving intervalului, pot fi cauzate potrivit lui Westwood ș.a. (2002) și de lipsa de expresie a semnelor estrale la prima ovulație, situație întâlnită frecvent la vacile cu producții mari de lapte.

În mod similar parametrilor prezentați anterior, tot la vacile din grupul **E5**, indicii reproductivi au avut valori medii modificate față de restul vacilor din grupurile **E2 - E4** (vacile care au avut între 1 și 90 de zile de infecunditate) (tabel 8.1).

Aceste valori modificate ale indicilor reproductivi obținute în cadrul studiului nostru sunt justificabile, în contextul în care vacile specializate pentru producția de lapte au potrivit lui Faust ș.a. (1988), rate de concepție și de gestație mult mai scăzute față de vacile nespecializate.

Potrivit lui Franco (2006), asocierea producției de lapte cu lipsa/ durată redusă a semnelor estrale, cu perioada de așteptare crescută, cu indicele de gestație și rata de concepție scăzute, compromit în mod semnificativ fertilitatea efectivului.

În continuare ne vom referi strict la studiul privind implicațiile economice ale sindromului de anestrus, care sunt pierderile economice cauzate de scăderea eficienței reproductive în efectivul studiat și care este impactul acestor pierderi asupra nivelului de venituri ale fermierilor.

În acest sens, toate calculele economice au fost realizate la o valoare medie a monedei euro stabilită de către Banca Națională a României pentru anul 2016, de 4,4908 RON.

Astfel, pierderile economice la nivel de fermă reprezentate de nerealizarea numărului de viței, precum și costul deficitului de viței, s-au calculat cu ajutorul unor formule, după cum urmează (Pronin, 1971): $Dv = Zs : 365$ și $Cdv = Cv \times Dv$, unde:

Dv – deficitul de viței;

Zs – zile infecunditate/ sterilitate;

365 – numărul de zile pentru obținerea unui vițel;

Cdv – costul deficitului de viței;

Cv – costul vițelului la fătare (44,53 €).

În urma calculelor realizate pe baza formulelor de mai sus menționate, într-un an calendaristic s-a realizat un deficit de 10 viței (3607 zile infecunditate : 365 zile), iar pierderea economică înregistrată la nivelul întregii ferme din cauza nerealizării numărului de viței este de 445,3 €.

În ceea ce privește stabilirea deficitului economic produs prin nerealizarea producției de lapte, s-au folosit formulele: $DI = Zs \times Idl$ și $Cdl = DI \times C/l$, unde:

DI – deficitul de lapte;

Idl – indicele deficitului de lapte stabilit pentru 1 zi de infecunditate;

Cdl – costul deficitului de lapte;

C/l – prețul unui litru de lapte.

Astfel, la o producție medie de lapte de 6810 litri/lactație/vacă, indicele deficitului de lapte stabilit pentru o zi de infecunditate a fost de 1‰, după Neaga ș.a. (1984), iar prin nerealizarea producției de lapte în decursul unui an, deficitul de lapte calculat la cele 3607 zile de infecunditate/ sterilitate, a fost de 24.564 litri de lapte.

Costul deficitului de lapte a fost calculat cu ajutorul formulei mai sus menționate, ferma înregistrând pierderi în valoare de 7124 €, având în vedere faptul că prețul unui litru de lapte luat în calcul la momentul studiului, a fost de 0,29 €.

În continuare, vom prezenta pierderile economice care au rezultat din cheltuielile neproductive din cauza vacilor infecunde. În cazul de față, ne referim strict la cheltuielile produse cu furajarea, îngrijirea și întreținerea vacilor infecunde.

Formula după care se calculează pierderile economice survenite în urma cheltuielilor neproductive (Pronin, 1971), este $C_n = C_f + C_i + C_{i'}$, unde:

C_n – cheltuieli neproductive;

C_f – cheltuieli realizate cu furajarea;

C_i – cheltuieli realizate cu întreținerea;

C_{i'} – cheltuieli realizate cu îngrijirea.

Tot în această categorie de pierderi, s-au încadrat cheltuielile neproductive pentru viței, care s-au calculat după formulele: $341 \times 75\% = 255,7$ viței și $D_v \times 100 : 255,7$ viței, unde:

341 – numărul total de vaci luat în studiu;

75% - natalitatea la nivelul fermei;

D_v – deficitul de viței.

Astfel, în urma calculelor realizate, cheltuielile totale zilnice pentru întreținerea, îngrijirea și furajarea unei vaci, au stabilite la o valoare de 8,44 €.

Nerealizarea numărului de viței la nivelul întregului efectiv de animale, a reprezentat aproximativ 5% ($341 \times 75\% = 255,7$ și $12,6 \times 100 : 255,7 = 4,9\%$), astfel încât vacile care au fost încadrate în categoria femelelor infecunde, realizează cheltuieli neproductive atât prin nerealizarea producției de lapte (1‰), cât și prin nerealizarea numărului de viței (5%).

La cheltuielile calculate de 8,44 €/zi, nerealizările de plan de 15% sunt de 1,27 € ($15\% \times 8,44$ €), reprezentând cheltuielile neproductive, calculate pentru o zi de infecunditate.

Calcularea propriu-zisă a cheltuielilor neproductive înregistrate la nivelul întregii ferme, s-a realizat utilizând relația $C_n = Z_s \times C_n/z_s$, unde:

C_n – cheltuieli neproductive;

Z_s - zile infecunditate/sterilitate;

C_n/z_s – cheltuieli neproductive/1 zi de infecunditate.

În urma calculelor realizate, pierderile pe care ferma de vaci le înregistrează din cauza cheltuielilor neproductive, sunt de 30.443 €.

Pentru calcularea pierderilor totale înregistrate în fermă din cauza infecundității, s-a folosit relația $Pts = Cdv + Cdl + Cn$, unde:

Pts - pierderile totale înregistrate pentru perioadele de infecunditate/sterilitate.

Calcularea acestor pierderi, au arătat că pentru 3607 zile de infecunditate înregistrate în total la nivelul întregului efectiv de animale, fermierul a suportat o pierdere economică de 38.012 €, reprezentând 10,53 € (38.012 € : 3607 zile infecunditate) pierderi zilnice pentru fiecare vacă infecundă înregistrată în fermă.

Pierdere economică înregistrată de către fermier pentru fiecare vacă infecundă, s-a stabilit pe baza formulei: $Pa = Pts : Nvs$, unde:

Pa – pierderile calculate pentru fiecare vacă infecundă;

Nvs – numărul total de vaci infecunde.

Astfel, pentru fiecare vacă diagnosticată cu o afecțiune ce se manifestă printr-o stare de infecunditate, fermierul a înregistrat o pierdere de 330 € (38.012 : 115 vaci infecunde).

În continuare, ne vom referi la cheltuielile realizate în fermă, pentru tratarea celor 115 vaci infecunde, în funcție de fiecare afecțiune în parte (corp luteal persistent, chisturi ovariene, inactivitate ovariană). Pentru calcularea acestora, am folosit formula

$Cv = Nat \times Ct/a$, unde:

Cv – cheltuielile înregistrate pentru activitățile sanitar veterinar;

Nat – numărul de animale tratate;

Ct/a – costul tratamentului realizat/ animal.

În perioada luată în studiu, au fost diagnosticate 70 de vaci cu persistența corpului luteal, 25 cu chisturi ovariene și 20 de vaci cu hipofuncție ovariană. Acestea li s-a administrat medicație hormonală, numărul tratamentelor variind de la 1 - 3, în funcție de ovaripatia diagnosticată.

Pentru tratarea corpului luteal persistent, s-a administrat Estrumate® (500 mcg/doză, 2 ml i.m.), iar pentru chisturile ovariene și hipotrofia ovariană, s-a administrat Receptal® (2,5 ml i.m., respectiv 5 ml i.m.).

Luând separat fiecare ovaripatie în parte, cheltuielile au variat astfel: pentru tratarea vacilor diagnosticate cu corp luteal persistent, s-au cheltuit 347,6 € = (70 x 1,87 €) + (55 x 1,87 €).

Pentru vacile diagnosticate cu chisturi ovariene s-au cheltuit 58,5 € (25 x 2,34 €), iar pentru vacile care au prezentat hipotrofie ovariană, s-au cheltuit 93,8 € (20 x 4,69 €).

În concluzie, pentru tratarea infecundității la vacile din ferma luată în studiu, s-au cheltuit 589,9 € (347,6 € + 58,5 € + 93,8 €).

De asemenea, studiul nostru a urmărit evidențierea eventualelor pierderi survenite în urma tratamentelor aplicate pentru tratarea infecundității, iar în acest sens s-a aplicat formula $Pp = Pa \times (Nvt - Nvs)$, unde:

Pp – pierderile survenite;

Nvt – numărul de vaci tratate;

Nvs – numărul vacilor sterile după aplicarea tratamentului.

În urma calculelor efectuate, pierderile înregistrate la nivelul fermei au fost de 30.360 €.

Calcularea efectului economic al tratamentului aplicat, s-a realizat după formula

$E = Pa \times (Nvt - Nvs) - Cv$, unde:

E – efectul economic.

După înlocuirea formulelor prezentate mai sus cu valorile obținute de noi în acest studiu, observăm că prin aplicarea tratamentelor corespunzătoare la vacile diagnosticate cu ovariopatii, efectul economic a fost de 29.770 €.

Ultimul calcul realizat în cadrul acestui studiu a fost reprezentat de calculul coeficientului de eficiență economică, ce s-a stabilit pe baza relației:

$K = E : Cv$, unde:

K – coeficientul de eficiență.

În urma calculului realizat, s-a evidențiat faptul că pentru fiecare sumă de bani cheltuită în scopul tratării infecundității, fermierul a înregistrat un coeficient de eficiență de 85,64 €.

Implementarea unei măsuri profilactice moderne de prevenire a sindromului de anestru, la vacile de lapte

După stabilirea prevalenței afecțiunilor utero-ovariene la vacile de lapte, ale principalelor afecțiuni ce generează sindromul de anestru, care este terapia acestuia și ce implicații economice are acest sindrom polifactorial, în continuare vom aborda ultimul obiectiv al tezei.

Acesta va trata prezentarea unei aplicații de smartphone destinată medicilor veterinari, ce va permite gestionarea activității reproductive a vacilor din ferme, din momentul introducerii animalului în efectiv și până la reformarea acestuia (eliminarea din efectiv).

Acestă aplicație (**Cattle365**) destinată telefoanelor smartphone cu sistem de operare Android, va permite utilizatorilor (medicilor veterinari) gestionarea informațiilor specifice animalelor din efectivul urmărit, accesul în timp real la toate datele disponibile în baza de date a aplicației și astfel, o mai bună manageriere a întregului proces reproductiv.

Necesitatea implementării aplicației Cattle365 a apărut ca urmare a situațiilor întâlnite de-a lungul activității de cercetare în cadrul diverselor ferme de vaci, situații în care existența unui astfel de instrument digital ar fi facilitat întregul proces de examinare/supraveghere reproductivă a vacilor din fermele respective.

De asemenea, volumul mare de documente, lipsa unei imagini de ansamblu a efectivului urmărit (starea generală de sănătate, procentul de animale gestante sau cu diverse afecțiuni genitale etc.), precum și păstrarea întregii gestiuni a efectivului în

registre fizice, au constituit punctele cheie în nevoia dezvoltării acestui sistem digital de manageriere destinat fermelor de vaci.

Numele aplicației “Cattle365” este format din alăturarea a ceea ce am considerat a fi doi factori cheie ai acestei aplicații: “Cattle” cuvânt împrumutat din limba engleză (tradus - bovine, vaci) și ”365” ce reprezintă calving intervalul - numărul mediu de zile cuprins între două parturiții (Drugociu ș.a., 2015).

Astfel, scopul acestei aplicații de smartphone este de a dezvolta o metodă modernă de manageriere din punct de vedere reproductiv al unui efectiv de animale, constituind astfel, un instrument util pentru medicii veterinari ce doresc o supraveghere cât mai fidelă a vacilor dintr-un efectiv.

Utilizarea aplicației “Cattle365” de către medicul veterinar din fermele de vaci va ajuta la:

- o identificare rapidă a vacilor din efectivul respectiv;
- obținerea unei imagini de ansamblu în timp real a întregului grup de animale;
- reducerea timpului petrecut de către medicul veterinar în fermă și evitarea stresării animalelor (prezența omului ca factor de stres);
- reducerea timpului petrecut în scopul analizei și prelucrării statistice a datelor din fermă;
- identificarea mai precisă a vacilor ce urmează să prezinte semne estrale în perioada imediat următoare (notificări trimise pe telefonul mobil cu trei zile înainte de debutul fiziologic ale semnelor estrale), ajutând astfel la reducerea incidenței anestrului de detecție și de manifestare.

Dezvoltarea aplicației “Cattle365”

Dezvoltarea software a fost realizată folosind Mediul Oficial de Dezvoltare (IDE) pentru sisteme Android (Android Studio) instalat pe un sistem de operare bazat pe platforma Linux (Ubuntu).

Limbajul de programare în care a fost scrisă aplicația este „Java” iar ca și librării software adiționale utilizate în cadrul dezvoltării, s-au folosit „Java SE Development Kit 8” precum și „Android Software Development Kit (SDK)”. Ca și servicii web ce facilitează transferul bidirecțional dintre aplicație și baza de date, s-a folosit suita de servicii oferită de Google Firebase.

Prin intermediul acestora, aplicația poate stoca datele într-un server cloud securizat, se pot analiza traficul efectuat de utilizatori precum și performanțele acestora. În cele din urmă, aplicația a fost asamblată și oferită spre utilizare, folosind ca și „build tool” (unealtă de asamblare) o soluție software furnizată de Gradle.

În momentul de față, aplicația este încă în faza de testare, iar după aducerea acesteia la o formă stabilă, va fi exploatată sub forma unui proiect pilot în cadrul a câtorva ferme de bovine. În cazul succesului acestui proiect pilot, aplicația va fi distribuită în cadrul magazinului virtual oficial Google Play.

Cerințele aplicației “Cattle365”

Acest sistem digital de manageriere a activității reproductive din fermele de vaci necesită utilizarea obligatorie a unui telefon de tip „smartphone”, cu sistem de operare Android, versiunea 5.1. Lollipop sau o versiune mai avansată a acestuia. De asemenea, este necesară utilizarea unui telefon cu cameră foto încorporată, opțional cu lanternă încorporată (pentru situațiile în care luminozitatea din fermă este scăzută) și bineînțeles o conexiune la internet, întrucât toate informațiile introduse în baza de date a aplicației, vor fi stocate într-un server extern securizat ”Cloud”.

Structura aplicației “Cattle365”

Cattle365 este structurată în patru module principale (fig. 8.4) și alte trei secundare, cele din urmă cuprinzând detalii legate de setări, informații generale, precum și posibilitatea de a distribui aplicația pe diverse site-uri de socializare.

Cele patru module principale sunt reprezentate de:

Modulul de scanare al crotalului - această secțiune folosește camera foto a telefonului ca instrument de detecție și scanare al codului de bare inscripționat pe crotalul amplasat pe urechea animalului. Ulterior, aplicația decodifică codul de bare și îl expune utilizatorului sub forma valorii numerice inscripționate pe crotal.

Prin accesarea acestui modul, aplicația oferă utilizatorului trei tipuri de posibile operațiuni: adăugarea unui nou animal în baza de date, editarea sau cautarea rapidă a unui animal deja existent.

Modulul de afișare al listei de animale - în această secțiune, aplicația va afișa întreaga listă cu animalele din efectiv, va permite căutarea manuală a unui animal pe baza codului inscripționat pe crotal precum și accesul detaliat la informații individuale disponibile pentru fiecare animal.

Modulul de notificări - în această secțiune, aplicația va afișa o listă de viitoare evenimente legate de apariția semnelor estrale la vaci, evenimente ce vor fi afișate și pe ecranul telefonului utilizatorului sub forma unei notificări. Cu trei zile înainte de apariția fiziologică a semnelor estrale, utilizatorul va primi pe telefon o avertizare, cu scopul de a spori atenția față de animalele menționate în notificare.

Scopul principal al acestor notificări este sporirea atenției medicului veterinar, în ceea ce privește diagnosticarea fals pozitivă cu anestru a vacilor cu estru liniștit.

Modulul de statistici - această secțiune are rolul de a genera automat grafice cu situația diversilor parametri urmăriți sau a stării generale de sănătate, acestea având scopul de a oferi o imagine de ansamblu în timp real asupra întregului efectiv de animale.

Dacă în cele prezentate anterior s-a menționat despre utilitatea, cerințele, dar și despre structura aplicației, în cele ce urmează vom prezenta meniul propriu-zis al acestui sistem digital de manageriere (**Cattle365**) pentru activitatea reproductivă, precum și simularea unei situații concrete în care se adăugă un nou animal în efectiv.

În mod similar celorlalte aplicații de smartphone, după instalare, “**Cattle365**” va fi prezentă sub forma unei pictograme în meniul principal al telefonului utilizatorului, selectarea acesteia facilitând pornirea aplicației. Aceasta va afișa un ecran de bun

venit (fig. 8.1), urmat de secțiunea unde sunt prezentate introductiv cele patru module principale (modulul de scanare, modulul cu lista de animale din efectiv, modulul de notificări precum și modulul de statistici) (fig. 8.4).

După parcurgerea secțiunii de „**Bun Venit**” (fig.8.1) și „**Introducere**” (fig.8.4), utilizatorul va fi redirecționat automat către zona cu meniul principal (fig.8.2) și/sau meniul de navigare (fig.8.3) ce poate fi accesat prin efectuarea unui gest de „glisare spre dreapta” (swipe left gesture). Prin intermediul acestor două secțiuni, utilizatorul poate naviga și accesa orice modul al aplicației (atât cele principale, cât și cele secundare).



Fig. 8.1 Ecranul de "Bun Venit" (foto original)

Fig. 8.1 "Welcome" Screen (original photo)

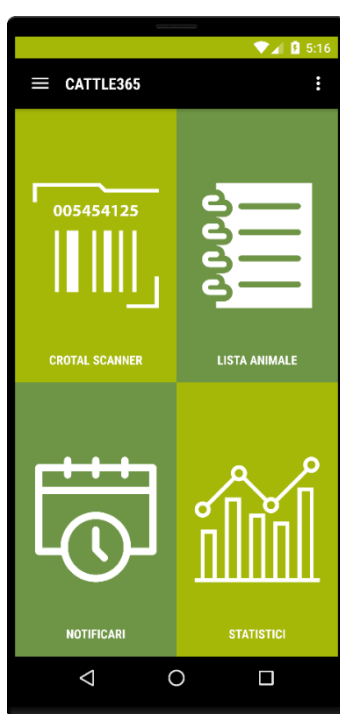


Fig. 8.2 Meniul principal al aplicației (foto original)

Fig. 8.2 Application Main Menu (original photo)

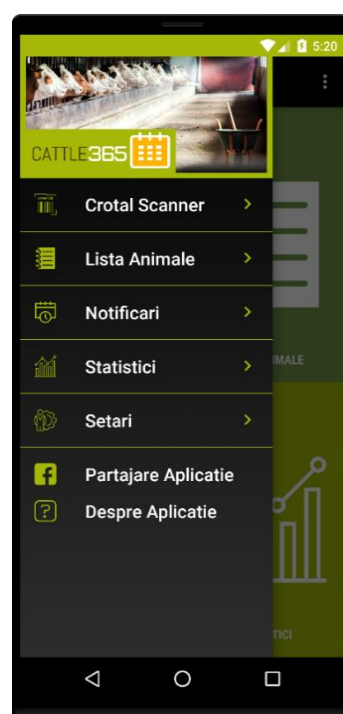
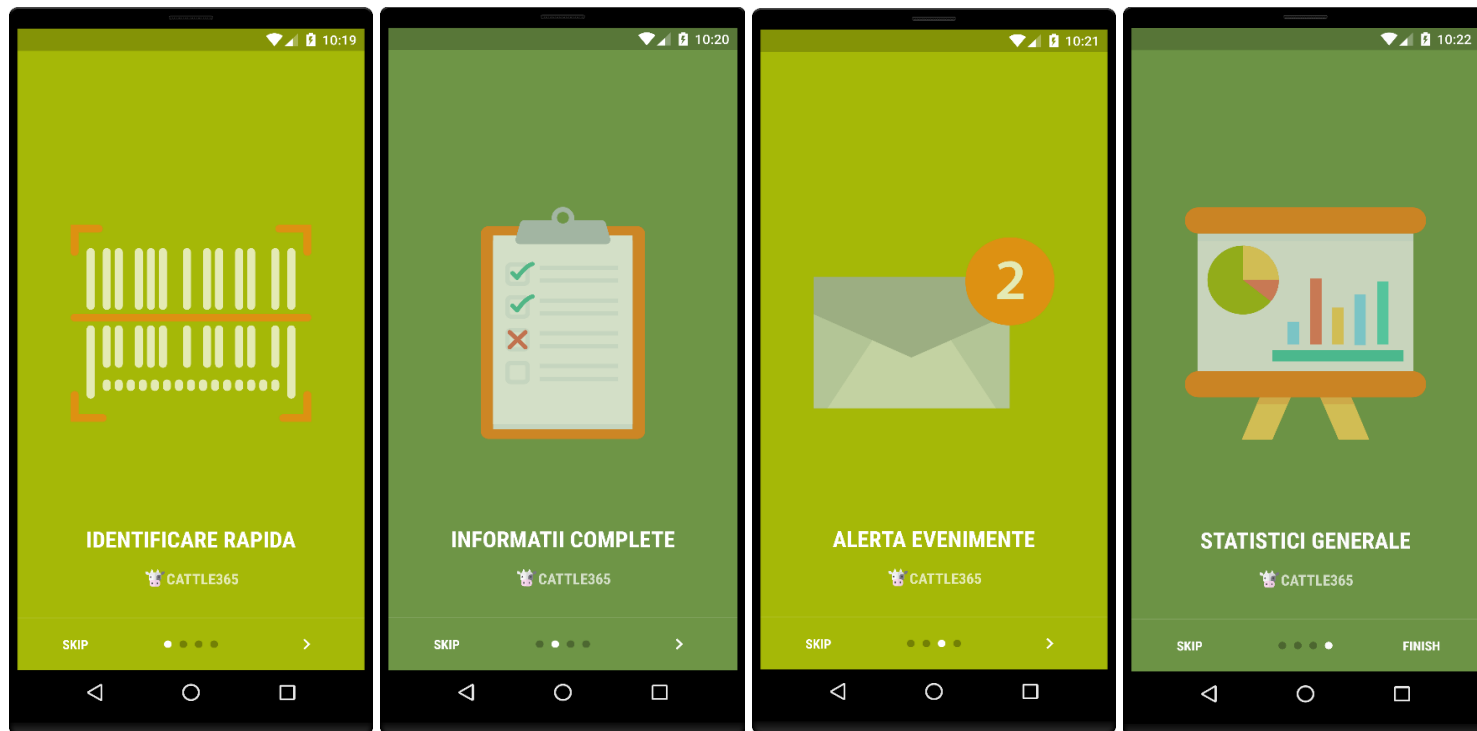


Fig. 8.3 Meniul de navigare al aplicației (foto original)

Fig. 8.3 Application Navigation Menu (original photo)

Fig. 8.4 Secțiunea introductivă ce prezintă Modulele Principale ale Aplicației (foto original)
Fig. 8.4 Intro Section with Application Main Modules (original photo)



Accesarea **Modului de Scanare** se poate realiza atât din meniul principal, cât și din meniul de navigare, apăsând pe ecran butonul „**Crotal Scanner**”. Odată apăsat acest buton, utilizatorul va avea posibilitatea de a selecta operațiunea de scanare dorită (adăugare animal nou, editare sau scanare animal existent) (fig. 8.5).



Fig. 8.5 Selectarea operațiunii de scanare (foto original)

Fig. 8.5 Select Scanning Operation (original photo)



Fig. 8.6 Scanarea codului de bare (foto original)

Fig. 8.6 Barcode Scanner (original photo)

După selectarea operațiunii dorite, camera foto a telefonului se va activa automat, iar aplicația va porni secțiunea de scanare și decodificare a codului de bare inscripționat pe crotalul de pe urechea animalului (fig. 8.6).

Prin poziționarea corectă a telefonului cu camera foto activată deasupra codului de bare (pentru situațiile în care lumina ambientală este slabă, aplicația poate activa și lanterna telefonului), aplicația va identifica, decodifica și procesa corespunzător codul de bare, utilizatorul fiind redirecționat către următoarea secțiune a aplicației, în funcție de opțiunea dorită selectată anterior (adăugare animal nou, editare sau scanare animal existent) (fig. 8.5).

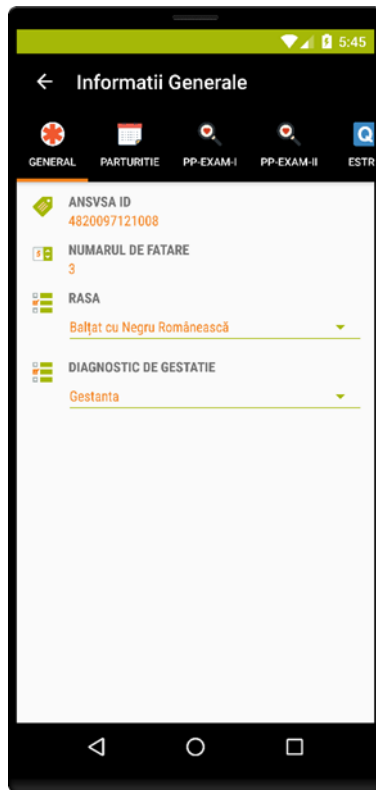


Fig. 8.7 Informații Generale (foto original)

Fig. 8.7 General Information (original photo)

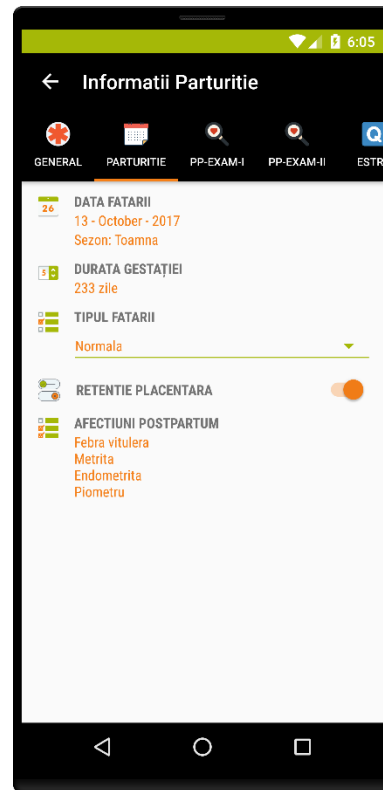


Fig. 8.8 Informații Parturiție (foto original)

Fig. 8.8 Parturition Information (original photo)

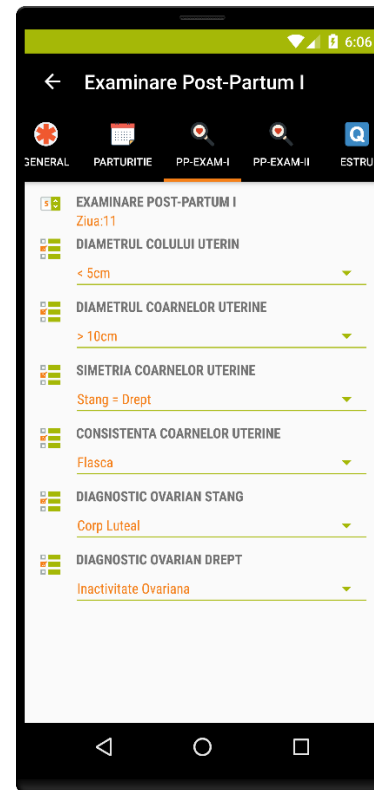


Fig. 8.9 Prima examinare postpartum (foto original)

Fig. 8.9 First Postpartum Examination (original photo)

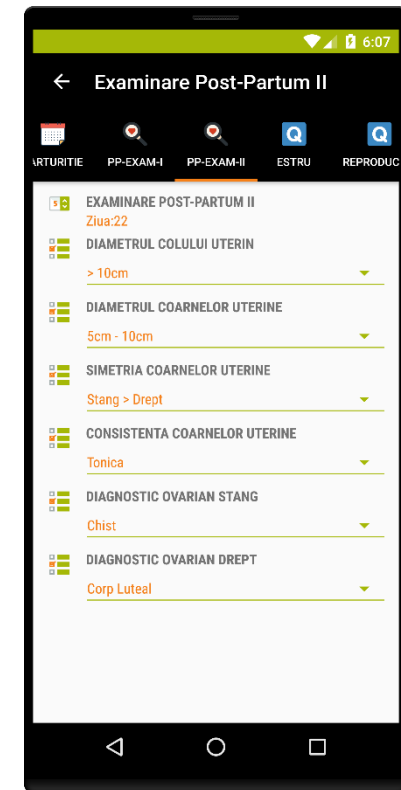


Fig. 8.10 A doua examinare postpartum (foto original)

Fig. 8.10 Second Postpartum Examination (original photo)



Fig. 8.11 Informații Estrale
(foto original)

Fig. 8.11 Estrus Information
(original photo)

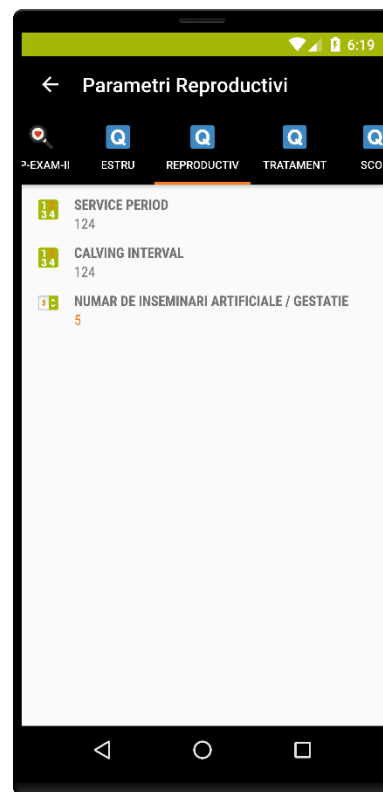


Fig. 8.12 Parametri Reproductivi
(foto original)

Fig. 8.12 Reproductive
Parameters

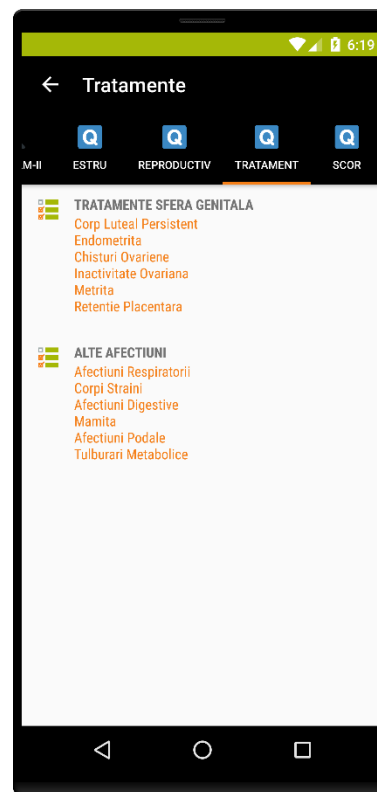


Fig. 8.13 Tratamente
(foto original)

Fig. 8.13 Treatments
(original photo)

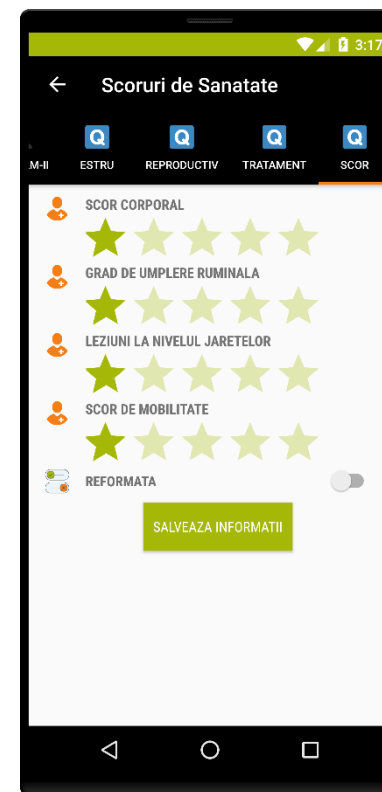


Fig. 8.14 Scoruri de sănătate
(foto original)

Fig. 8.14 Health Scores
(original photo)

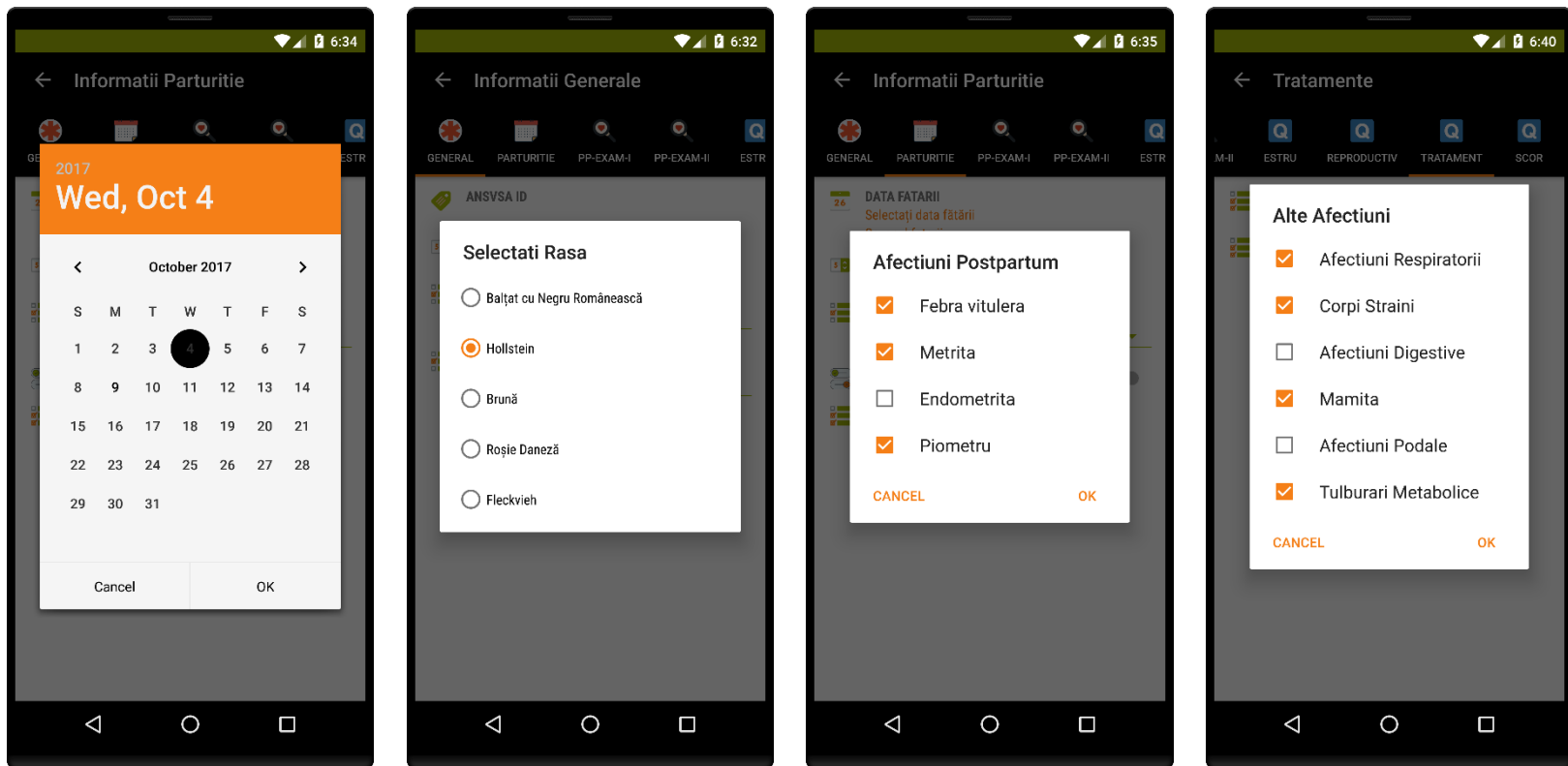


Fig. 8.15 Modalități de selectare/introducere a datelor din sub-meniurile aplicației "Cattle365"
 Fig 8.15 Data input types within "Cattle365" Application Sub-Menu

Luând ca exemplu situația în care se dorește adăugarea unui nou animal în baza de date, aplicația va afișa succesiv o serie de sub-meniuri referitoare la:

- **informații generale** (numărul înscrisționat pe crotalul urechii vacii, numărul de fătare, rasa, diagnosticul de gestație) (fig. 8.7);
- **informații despre gestație/ parturiție** (data și sezonul parturiției, durata gestației, tipul de parturiție, dacă vaca a prezentat sau nu retenție placentară, afecțiuni postpartum) (fig. 8.8);
- **informații legate de prima și cea de-a doua examinare postpartum** (ziua examinării, diametrul colului uterin, diametrele coarnelor uterine, simetria coarnelor uterine, diagnosticul ovarian) (fig. 8.9; 8.10);
- **informații estrale** (prezența sau absența estrului în decursul primelor 60 de zile postpartum, data primei inseminări artificiale, data inseminării artificiale fecunde, perioada de așteptare, perioada de reproducere) (fig. 8.11);
- **informații despre indicii reproductivi** (service periodul, calving intervalul, numărul de inseminări artificiale necesare obținerii unei gestații) (fig. 8.12);
- **informații disponibile despre tratamentele efectuate** (tratamente sfera genitală, alte afecțiuni) (fig. 8.13);
- **scoruri de sănătate** (scorul corporal, gradul de umplere ruminală, leziunile jaretelor, scorul de mobilitate) (fig. 8.14).

Adăugarea unui nou animal în efectiv necesită completarea tuturor secțiunilor enumerate anterior, prin selectarea sau completarea opțiunilor disponibile.

Toate informațiile nou introduse, aferente unui anumit număr de crotal, vor fi salvate în baza de date, putând fi accesate oricând de către utilizator (medicul veterinar), cu mențiunea că salvarea sau accesarea informațiilor necesită o conexiune la internet.

Un alt modul care poate fi accesat atât din meniul principal cât și din cel de navigare este **Modulul de afișare al listei de animale**. Această secțiune oferă posibilitatea vizualizării întregii liste de animale adăugate și salvate anterior în baza de date a aplicației, acestea putând fi identificate manual sau automat pe baza numărului de identificare înscrisționat pe crotal (fig. 8.16; 8.17).

Căutarea manuală a unui animal după numărul de crotal, presupune tastarea numărului de identificare ce se dorește a fi găsit. În cazul în care animalul este găsit în baza de date, aplicația va redirecționa utilizatorul către o secțiune ce va afișa informații detaliate despre animalul căutat, precum:

- lista cu toate informațiile aferente ce au fost stocate în procesul de adăugare a unui animal (informații generale, informații despre gestație, informații estrale, afecțiuni, tratamente etc.) (fig. 8.16).
- un indicator de sănătate generat automat pe baza anumitor parametri urmăriți (scorul corporal, gradul de umplere al rumenului, leziunile jaretelor, scorul de mobilitate) denumit "Heal-o-meter" (barometru al stării de sănătate) (fig. 8.17);

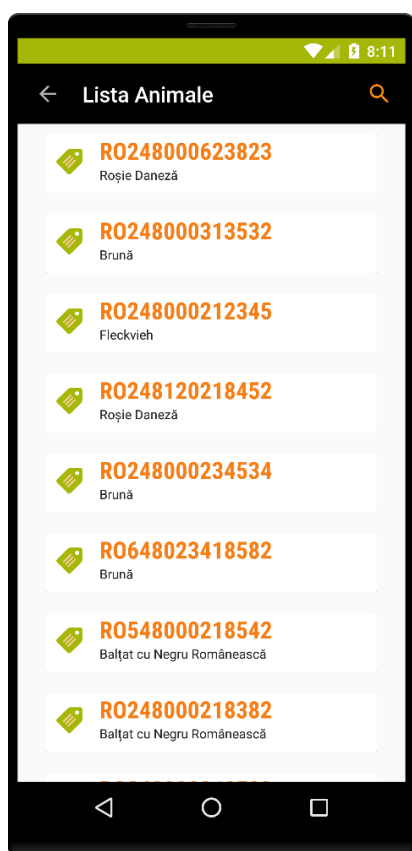


Fig. 8.16 Lista de animale (foto original)

Fig. 8.16 Animals List (original photo)

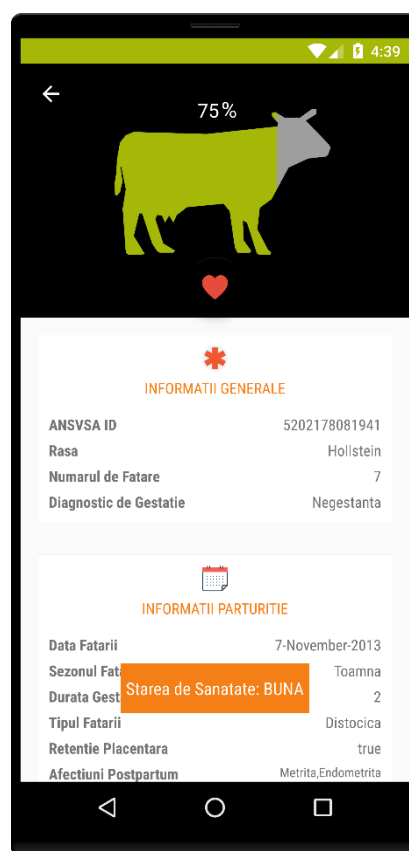


Fig. 8.17 Detaliile disponibile din lista de animale (foto original)

Fig. 8.17 Available Details from Animals List (original photo)

Tot din aceasta secțiune, aplicația mai oferă posibilitatea expedierii informațiilor disponibile despre animalele salvate în baza de date direct prin e-mail, datele fiind atașate sub forma unui document PDF.

Modulul de Notificări, ce poate fi accesat din ambele meniuri (cel principal precum și cel de navigație), are ca principală funcționalitate listarea de viitoare evenimente legate de apariția semnelor estrale la vaci.

Aceste evenimente ce vor fi afișate pe ecranul telefonului utilizatorului sub formă de notificări (Push Notifications) (fig.8.18). Mai precis, cu trei zile înainte de apariția fiziologică a semnelor estrale, utilizatorul va primi pe telefon o avertizare, cu scopul de a spori atenția față de animalele menționate în notificare (fig. 8.18).

Astfel, utilizatorul (medicul veterinar), poate afla cu ușurință care sunt vacile ce urmează să prezinte semne estrale în următoarele 3 zile (pentru un ciclu sexual de 21 de zile), minimizând riscul de diagnosticare fals pozitivă cu anestru a vacilor cu estru liniștit.

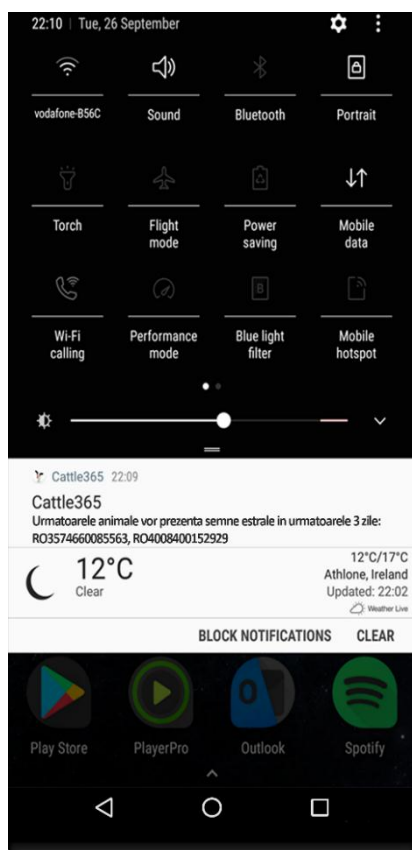


Fig. 8.18 Modulul de notificări (Push Notification) (foto original)

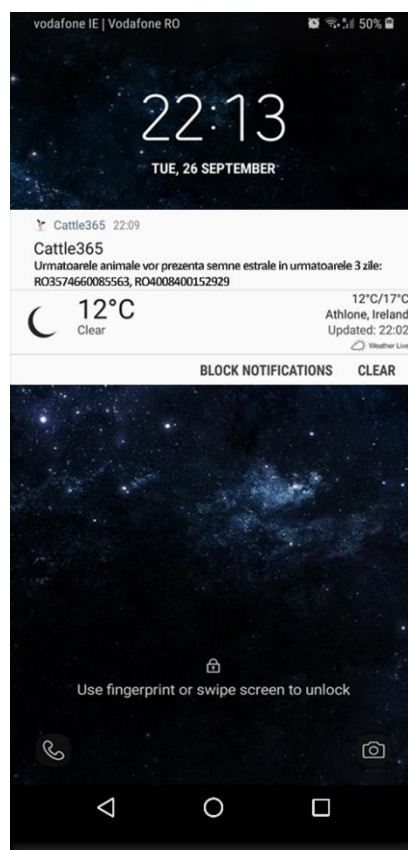


Fig. 8.18 Notification Module (Push Notification) (original photo)

Ultimul modul principal al aplicației este reprezentat de **Modulul de Statistici**. Acestea sunt generate automat, luând în calcul întreg efectivul de animale.

Generarea graficelor și statisticilor se realizează pe baza informațiilor salvate în baza de date a aplicației și ne oferă o situație în timp real ai unor diverși parametri urmăriți în cadrul efectivului de animale (distribuția raselor din efectiv, distribuția parturițiilor, a stării generale de sănătate, prevalența anestrului în cadrul efectivului, prevalența distociilor și ale altor afecțiunilor uterine).

Existența acestui modul de statistici, ajută medicul veterinar să reducă considerabil timpul petrecut pentru analiza și procesarea datelor din fermă, iar evidența asupra indicatorilor reproductivi cheie este mult mai strictă (fig. 8.19).

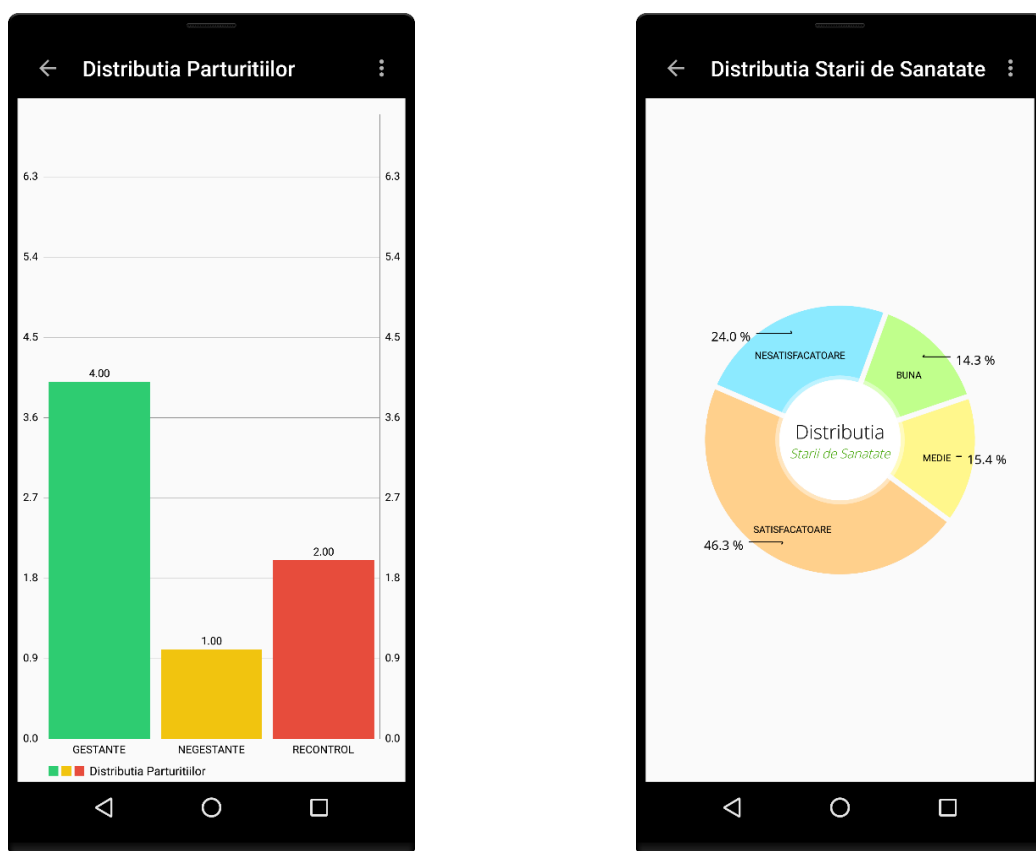


Fig. 8.19 Modulul de Statistici (foto original)

Fig. 8.19 Statistics Module (original photo)

Astfel, utilizând această aplicație de smartphone, utilizatorii (medicii veterinari) pot accesa/edita toate informațiile disponibile despre vacile existente în fermă, permițând un control mai strict al efectivului de animale.

Utilizarea **Cattle365** va facilita monitorizarea și gestionarea efectivului în mod eficient, aplicarea tratamentelor necesare la momentul potrivit, prevenind astfel pierderile economice cauzate de cheltuielile de întreținere, îngrijire sau cele realizate cu efectuarea tratamentelor (boli utero-ovariene, anestrus).

8.3. Concluzii parțiale

1. În ceea ce privește studiul implicațiilor economice și implementarea unei măsuri moderne de prevenire a sindromului de anestr, la vacile de lapte, valorile crescute ale perioadei de reproducere, service periodului și calving intervalului la vacile din loturile **E2 - E5**, se evidențiază că lipsa de observare a semnelor estrale în unele cazuri, afectează buna funcționare a efectivului.

2. Valorile modificate ale indicilor reproductivi din grupul **E5** susțin datele din literatura de specialitate, conform căreia vacile cu producții mari de lapte au rate de concepție și de gestație mai scăzute decât cele din rasele nespecializate.

3. Studiului economic realizat în acest capitol, a evidențiat faptul că în urma cheltuielilor realizate cu furajarea, întreținerea și îngrijirea vacilor infecunde, costurile zilnice pentru fiecare vacă au fost de 8,44€.

4. Cheluielile neproductive pe un an de studiu realizate cu furajarea, întreținerea și îngrijirea vacilor infecunde înregistrate la nivelul întregii ferme, au fost de 30.443€.

5. Pierderile totale înregistrate la nivelul întregii ferme pentru 3607 zile de infecunditate au fost de 38.012€, iar pentru fiecare vacă s-au cheltuit zilnic câte 10,53€.

6. Pentru tratarea infecundității, cheltuielile totale înregistrate într-un an de studiu au fost 589,9€, iar pentru fiecare sumă de bani cheltuită în scopul tratării infecundității, la nivel de fermă s-a înregistrat un coeficient de eficiență de 85,64€.

7. Aplicația de smartphone "**Cattle365**" reprezintă o metodă modernă de manageriere din punct de vedere reproductiv al unui grup de animale, constituind astfel, un instrument util pentru medicii veterinari ce doresc o supraveghere mai fidelă a vacilor dintr-un efectiv.

8. **Cattle365** permite gestionarea întregii activități reproductive a vacilor din fermă, din momentul introducerii animalului în efectiv și până la reformarea acestuia.

9. Oferă posibilitatea de a avea acces la toate informațiile stocate în baza de date a aplicației, oferind în același timp o imagine de ansamblu și în timp real a întregului grup de animale.

10. Utilizarea acestei aplicații oferă posibilitatea identificării mai precise a vacilor ce urmează să prezinte semne estrale în perioada imediat următoare (prin intermediul notificărilor recepționate pe telefonul mobil, cu trei zile înainte de apariția fiziologică a semnelor estrale), prevenind astfel diagnosticarea fals pozitivă cu anestr a vacilor cu estru liniștit.

11. Acest sistem de monitorizare digitală facilitează monitorizarea mai atentă a vacilor și prezintă avantajul reducerii timpului petrecut de către medicul veterinar în fermă, precum și evitarea stresării animalelor (prezența omului ca factor de stres).

12. Având în vedere cheltuielile înregistrate în fermele de vaci pentru tratarea animalelor cu diverse afecțiuni manifestate prin anestru, se recomandă în acest sens, utilizarea unor noi metode de prevenire și combatere ale acestor patologii.

13. Se recomandă acordarea unei atenții sporite sistemului de întreținere, furajare, a stării de întreținere a animalelor și bineînțeles o mai bună detecție a semnelor estrale.

CAPITOLUL IX. CONCLUZII FINALE, RECOMANDĂRI, LIMITELE STUDIULUI ȘI PERSPECTIVE DE CERCETARE

1. În urma primului studiu retrospectiv cu privire la prevalența ovaripatiilor (2010 - 2014), 38,49% (321 vaci) din numărul total de 834 vaci de lapte, au fost diagnosticate cu afecțiuni ovariene ce au ca formă de manifestare anestrul.

2. În ceea ce privește distribuția afecțiunilor ovariene în funcție de anul de studiu, cea mai mare prevalență a acestora a fost înregistrată în anul 2010 (30,22%), iar cea mai scăzută prevalență a ovaripatiilor a fost observată în anul 2012, când prevalența maximă a avut o valoare de 20,56%.

3. Dintre cele trei ovaripatii urmărite, cea mai mare prevalență a fost înregistrată pentru corpul luteal persistent (48,59 % din totalul de 321 ovaripatii), urmată de hipotrofia ovariană (28,67%), boala chistică ovariană având o prevalență de doar 22,74%.

4. În funcție de sezonul de fătare, s-a evidențiat că la vacile la care parturiția s-a produs în perioada decembrie - mai, s-a înregistrat o prevalență crescută a afecțiunilor ovariene. În funcție de numărul lactației, s-a observat că prevalența ovaripatiilor studiate a fost maximă în cursul primei lactații, cu variații între 45,2% și 48,9%.

5. În ceea ce privește studiul cu privire la efectul tratamentelor hormonale asupra perioadei de reproducere, s-a evidențiat că existența patologiilor ovariene prelungește perioada de reproducere, ducând la un număr mai mare de inseminări artificiale pentru obținerea unei gestații, la prelungirea service periodului, al calving intervalului și implicit la creșterea pierderilor economice în cadrul fermei.

6. În urma studiului realizat cu privire la afecțiunile uterine ca factori de infecunditate la vacile pentru lapte, prevalența afecțiunilor din sfera genitală, a înregistrat o valoare de 21,75% din totalul animalelor examinate.

7. În urma prelucrării microbiologice a probelor de secreții vaginale sau uterine recoltate de la vacile cu semne clinice de endometrite, au predominat bacteriile Gram negative (*Escherichia coli* și *Klebsiella spp.*) într-o proporție de 64% din tulpinile izolate, în timp ce bacteriile Gram pozitive (*Staphylococcus spp.*, *Corynebacterium* și *Streptococcus spp.*) au fost izolate în proporție de 36%.

8. Tulpinile Gram negative au fost rezistente la Amoxicilină potențată cu Acid Clavulanic. De asemenea, s-a observat că un procent destul de mare din tulpinile Gram negative izolate au fost rezistente la Penicilină, Ampicilină, Oxacilină și Vancomicină.

9. Toate tulpinile Gram negative au fost sensibile la antibiotice din clasa Fluoroquinolone (Enrofloxacin și Flumequine).

10. Tulpinile Gram pozitive izolate, au prezentat o rezistență crescută la antibioticele din clasa Beta-lactamine, subclasa Peniciline: Amoxicilină potențată cu Acid Clavulanic, Ampicilină și Penicilină, dar și la antibiotice din clasa Macrolide (Eritromicina) sau la antibiotice din clasa Polipeptidelor ciclice (Colistin).

11. Toate tulpinile Gram pozitive au fost sensibile la acțiunea antibioticelor din clasa Beta-lactamine, subclasa Cefalosporine: Ceftiofur, Cefoxitin, Cefotaxime.

12. În urma investigațiilor realizate în vederea identificării principalelor gene ce codifică enzimele ESBL pentru tulpinile studiate, rezultatele noastre au fost negative pentru toate izolatele analizate.

13. Rezultatele noastre moleculare încurajează realizarea unor studii viitoare, având în vedere impactul și importanța epidemiologică a portajului cu tulpini de enterobacterii producătoare de ESBL izolate de la vaci.

14. În urma studiului privind principalele afecțiuni ce generează sindromul de la anestru la vacile de lapte, putem afirma că performanța reproductivă a vacilor este afectată de afecțiunile postpartale, determinând scăderea numărului de produși de concepție, afectarea capacității productive a vacilor și creșterea șanselor de reformare ale acestora.

15. În urma analizei statistice, s-a observat că parturițiile distocice reprezintă factori predispozanți pentru apariția afecțiunilor postpartum (retenția placentară, febra vituleră, metrita, endometrita). De asemenea, s-a evidențiat că retenția placentară secundară parturițiilor distocice, a reprezentat un factor predispozant pentru apariția endometritelor și a afecțiunilor metabolice (febra vituleră).

16. Prezența distociilor și retențiilor placentare au contribuit la modificarea indicilor reproductivi (perioada de reproducere, service period, calving interval, creșterea perioadei de așteptare – fătare – prima inseminare artificială), determinând astfel întârzieri în instalarea de noi gestații.

17. Dintre afecțiunile postpartum urmărite, cele care au avut semnificație statistică pentru studiul nostru, au fost retenția anexelor fetale, metrita și endometrita, influențând în sens negativ reluarea ciclicității ovariene în decursul celor 60 de zile postpartum.

18. Pe perioada studiului privind diagnosticul ecografic și tratamentul sindromului de anestru la vacile de lapte, s-au înregistrat mai multe tipuri de patologii genitale: endometrite (35), metrite acute (12), chisturi foliculare (26), chisturi luteale (21), corp luteal persistent (42), hipotrofie ovaiană (25), estru liniștit (22) însumând un total de 183 de afecțiuni utero-ovariene.

19. Prevalența vacilor cu estru liniștit raportată la numărul total de animale diagnosticate cu afecțiuni utero-ovariene (183 vaci), a fost de 12,1% (22 vaci), iar boala chistică ovariană (chisturi foliculare și chisturi luteale) a fost diagnosticată cu ajutorul examinării ecografice la 47 de vaci.

20. Hipotrofia ovariană a fost identificată la 5,6% (25 vaci) din totalul animalelor luate în studiu.

21. Dintre cele 20 de vaci diagnosticate cu estru liniștit (lotul **L2**), 60% (12 vaci) au prezentat semne estrale și au fost inseminate artificial, iar 35% (7 vaci) dintre acestea au fost diagnosticate ca fiind gestante, fără a fi nevoie de administrarea adițională a tratamentelor hormonale.

22. Pentru vacile din lotul **L3** (diagnosticate cu corp luteal persistent), semnele estrale au apărut la 75% (15 dintre cele 20 de vaci), iar dintre acestea, doar 45% (9 vaci) au fost diagnosticate ca fiind gestante.

23. La lotul **L4** (vaci diagnosticate cu corp luteal persistent), răspunsul la tratament a apărut la toate vacile tratate 100% (20 vaci), iar 90% (18 dintre cele 20 de vaci), au fost diagnosticate gestante în urma tratamentului efectuat.

24. La vacile din lotul **L5** (diagnosticate cu chisturi luteale), din cele 20 de vaci tratate, 85% (17 vaci) au răspuns pozitiv la tratament, iar gestante au fost diagnosticate doar 70% (14 vaci).

25. Pentru vacile diagnosticate cu hipotrofie ovariană (lotul **L6**), reechilibrarea dietei a dat rezultate doar pentru 30% (6 vaci) din cele 20 incluse în studiu, iar gestante au fost diagnosticate doar 20% (4 vaci).

26. În ceea ce privește studiul privind implicațiile economice și implementarea unei măsuri moderne de prevenire a sindromului de anestru, la vacile de lapte, valorile crescute ale perioadei de reproducere, service periodului și calving intervalului la vacile din loturile **E2 - E5**, evidențiază că lipsa de observare a semnelor estrale în unele cazuri, afectează buna funcționare a efectivului.

27. Studiul economic realizat în acest capitol, a evidențiat că în urma cheltuielilor realizate cu furajarea, întreținerea și îngrijirea vacilor infecunde, costurile zilnice pentru fiecare vacă au fost de 8,44€.

28. Cheltuielile neproductive pe un an de studiu realizate cu furajarea, întreținerea și îngrijirea vacilor infecunde înregistrate la nivelul întregii ferme, au fost de 30.443€.

29. Pierderile totale înregistrate la nivelul întregii ferme pentru 3607 zile de infecunditate au fost de 38.012€, iar pentru fiecare vacă s-au cheltuit zilnic câte 10,53€.

30. Pentru tratarea infecundității, cheltuielile totale înregistrate într-un an de studiu au fost 589,9€, iar pentru fiecare sumă de bani cheltuită în scopul tratării infecundității, la nivel de fermă s-a înregistrat un coeficient de eficiență de 85,64€.

31. Aplicația de smartphone "**Cattle365**" reprezintă o metodă modernă de manageriere din punct de vedere reproductiv al unui grup de animale, constituind astfel, un instrument util pentru medicii veterinari ce doresc o supraveghere mai fidelă din punct de vedere reproductiv ale vacilor dintr-un efectiv.

32. Utilizarea "**Cattle365**" permite gestionarea întregii activități reproductive a vacilor din fermă, din momentul introducerii animalului în efectiv și până la reformarea acestuia.

33. Utilizarea acestei aplicații oferă posibilitatea identificării mai precise a vacilor ce urmează să prezinte semne estrale în perioada imediat următoare (prin

intermediul notificărilor recepționate pe telefonul mobil, cu trei zile înainte de apariția fiziologică a semnelor estrale), prevenind astfel diagnosticarea fals pozitivă cu anestru a vacilor cu estru liniștit.

34. Având în vedere cheltuielile înregistrate în fermele de vaci pentru tratarea animalelor cu diverse afecțiuni manifestate prin anestru, se recomandă în acest sens, utilizarea unor noi metode de prevenire și combatere ale acestor patologii.

35. Se recomandă de asemenea, acordarea unei atenții sporite sistemului de întreținere, furajare, a stării de întreținere a animalelor, o utilizare corespunzătoare a antibioticelor, în sensul în care antibiorezistența reprezintă la momentul actual o problemă atât pentru sănătatea animală, cât mai ales pentru cea umană și bineînțeles o mai bună detecție a semnelor estrale.

Limitele studiului și perspective de cercetare

Deși tema sindromului de anestru la vacile pentru lapte este și a fost intens studiată, în lucrarea de față, am abordat acest subiect dintr-o altă perspectivă, iar la momentul actual, este printre puținele studii de această manieră realizate la nivel național.

Limitele studiului de față au fost date de zona geografică, efectivele pe care s-au realizat cercetările fiind regiunea de Nord-Est, Est a României și din cea de Est a Belgiei. Astfel, pentru obținerea unei imagini de ansamblu la nivel național în ceea ce privește tema studiată, este necesară o abordare mai amplă a subiectului propus, care să cuprindă și celelalte zone ale României, precum și alte regiuni din Europa.

O altă limitare a studiului nostru a constituit-o numărul redus de probe recoltate și analizate de la vacile diagnosticate cu endometrite clinice, pentru identificarea tulpinilor bacteriene producătoare de betalactamaze cu spectru extins, precum și ale genelor ce conferă rezistență la antibioticele din clasa Betalactamine.

În acest sens, recomandăm pe viitor realizarea unor studii mai ample care să includă un număr mai mare de subiecți pentru identificarea tulpinilor ESBL, precum și ale genelor ce codifică aceste enzime betalactamază cu spectru extins.

Pentru a preveni sindromul de anestru la vaci, recomandăm realizarea unor studii cu scopul de a înlocui pe cât posibil tratarea hormonală/antibiotică a animalelor ce prezintă afecțiuni ce generează instalarea acestui sindrom polifactorial și focusarea atenției pe măsurile de prevenire a sindromului de anestru (aspecte legate de hrănire, sistem de întreținere, îngrijire sanitar-veterinară).

CHAPTER IX. FINAL CONCLUSIONS, RECOMENDATION, STUDY LIMITS AND RESEARCH PERSPECTIVES

1. Following the first retrospective study regarding the ovarian disorders prevalence (2010 - 2014), 38,49% (321 cows) from a total of 834 dairy cattle, were diagnosed with anestrus caused by ovarian disorders.

2. Regarding the ovarian disorders distribution according to the studied year, the highest prevalence was recorded in 2010 (30,22%). The lowest prevalence was recorded during 2012, with a value of 20,56%.

3. Within the followed ovarian disorders, persistent corpus luteum had the highest prevalence (48.59% of the 321 ovarian diseases), followed by ovarian inactivity (28.67%). Cystic ovarian disease recorded a prevalence of 22.74%.

4. According to calving season we noticed that cows which calved during December – May, had an increased prevalence of ovarian diseases. According to lactation number, we noticed that the prevalence of ovarian disorders recorded a peak during first lactation (45,2% - 48,9%).

5. Regarding the study of hormonal treatments effects on reproduction period, we highlighted that the presence of ovarian disorders prolongs the reproduction period, leading to a higher number of artificial inseminations/pregnancy, to a prolonged service period and thus, increases economic losses within dairy cattle farms.

6. Following the study regarding uterine disorders as infertility factors in dairy cattle, the prevalence of genital disorders recorded a value of 21,75% within the total examined animals.

7. Following microbiological processing of vaginal/uterine secretions harvested from cows with clinical signs of endometritis, Gram negative bacterial strains were predominant (*Escherichia coli* and *Klebsiella* spp.) (64% of the isolated bacterial strains). Gram positive bacteria (*Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* and *Streptococcus* spp.) represented 36% of the isolated strains.

8. Gram negative bacterial strains were resistant to Amoxicillin with Clavulanic Acid. Also, we noticed that a high percent of Gram negative strains were resistant to Penicillin, Ampicillin, Oxacillin and Vancomycin.

9. All Gram negative bacterial strains have been sensitive to Fluoroquinolone antibiotics (Enrofloxacin and Flumequine).

10. Isolated Gram positive bacterial strains showed a high resistance to Beta-lactams antibiotics, Penicillin subclass: Amoxicillin with Clavulanic Acid, Ampicillin and Penicillin, but also to Macrolides (Erythromycin) or cyclic Polypeptides antibiotics (Colistin).

11. All Gram positive strains have been positive to Beta-lactams antibiotics, Cephalosporin subclass: Ceftiofur, Cefoxitin and Cefotaxime.

12. Following the investigations regarding identifying the main genes encoding ESBL enzymes for the studied strains, our results were negative for all the analyzed samples.

13. Our molecular results encourage further studies, taking into consideration the epidemiological impact and importance regarding the ESBL-producing bacteria isolated from cows.

14. Following the study regarding the main diseases which cause anestrus syndrome in dairy cattle, we noticed that the cow's reproductive performance is affected by postpartum disorders, causing a decrease in calves number, a decreased productivity and higher culling rates.

15. Based on statistical analysis, we observed that dystocia is a predisposing factor for postpartum diseases (placental retention, milk fever, metritis and endometritis). Also, we highlighted that placental retention secondary to dystocia has been a predisposing factor for endometritis and metabolic disorders (milk fever) occurrence.

16. Dystocia and placental retention contributed to modified reproductive indices (reproduction period, service period, calving interval, increased waiting period - calving - first artificial insemination), causing delays in new pregnancy installation.

17. Among the postpartum disorders studied, a statistical significance for our study were placental retention, metritis and endometritis, affecting thus the resumption of ovarian cycles during the first 60 days postpartum.

18. During the study regarding ultrasound diagnosis and anestrus syndrome treatment in dairy cattle, several types of genital disorders were recorded: endometritis (35), acute metritis (12), follicular cysts (26), luteal cysts (21), persistent corpus luteum (42), ovarian inactivity (25), silent estrus (22), for a total of 183 uterine and ovarian disorders.

19. The prevalence of silent estrous cows, from the total number of diagnosed animals (183 cows), was 12.1% (22 cows). Regarding cystic ovarian disease (follicular cysts and luteal cysts), a total number of 47 cows were diagnosed using the ultrasound examination.

20. Ovarian inactivity has been identified within 5,6% (25 cows) of the total animals taken under study.

21. Within the total number of 20 cows diagnosed with silent estrus (group L2), 12 showed estrus signs and were artificially inseminated. Also, 7 of these were diagnosed as being pregnant without any additional administration of hormonal treatments.

22. For L3 group cows (diagnosed with persistent corpus luteum), estrus signs were observed at 15 of the 20 cows, and only 9 of them were diagnosed as being pregnant.

23. In L4 group (cows diagnosed with persistent corpus luteum), treatment response occurred in all treated cows (20) and 18 of the 20 cows were diagnosed pregnant after treatment.

24. In L5 group cows (diagnosed with luteal cysts), of the 20 treated cows, 17 positively responded to treatment, and only 14 cows were diagnosed as being pregnant.

25. For cows diagnosed with ovarian inactivity (L6 group), a balanced diet had results for only 6 cows out of the 20 included in the study, and only 4 of them were diagnosed as being pregnant.

26. Regarding the economic implications study, the increased values of reproduction period, service period and calving interval in cows within E2 - E5 experimental groups, shows that a lack of estrus signs observation in some cases affects the proper functioning of the entire herd.

27. The economic study conducted within this chapter revealed that as a result of feeding spending, care and nursing costs for each infecund cow were 8.4€ /daily.

28. The unproductive spending for one year of study (days of feeding, care and nursing of infecund cows) was 30.443€ for the entire farm.

29. The total losses recorded for the entire farm (3607 days of infecundity) were 38.012€ and for each cow 10.53€ were spent daily.

30. For infecundity treatments, the total spending for one year of study was 589.9€, and for each amount spent for infecundity treatment, an efficiency coefficient of 85.64€ was recorded by the famer.

31. The "Cattle365" smartphone application is a mobile management and monitoring system for cattle reproduction. This is a useful tool for veterinarians seeking a more accurate reproductive surveillance of dairy cattle within a herd.

32. The use of "Cattle365" allows to manage the entire reproductive activity of cows within farm, from the moment the animal is introduced into the herd and until it is culled.

33. The use of this application offers the possibility to identify cows more precisely that will show estrus signs in the next period (smartphone notifications with three days before the physiological appearance of the estrus signs), preventing thus the false positive diagnosis with anestrus in cows with silent estrus.

34. Taking into consideration the high costs recorded in dairy cattle farms for treating animals with various disorders that lead to anestrus, it is recommended in this respect usage of new methods of preventing and combating these pathologies.

35. It is also highly recommended to pay more attention to housing system, feeding, animal welfare, appropriate use of antibiotics, taking into consideration that antibiotics are currently a problem both for animal health and for human. Of course, a good estrus detection is mandatory for a good reproductive efficiency.

Study limits and research perspectives

Although the anestrus syndrome in dairy cattle is highly studied theme, we approached this topic from a different perspective and at this moment, is one of the few studies carried out at a national level.

The study limits are given by the geographic area, by the studied herds (North-East, East of Romania and Eastern part of Belgium). Thus, in order to obtain an overall status at national level regarding the studied theme, a wider approach of the proposed subject is needed, including other areas of Romania.

Another limitation of our study was the reduced number of collected and analyzed samples from cows with clinical endometritis, for bacteria identification of producing extended-spectrum betalactamases and genes encoding antibiotic resistance in the Betalactamamine class.

In this regard, we recommend further studies to be carried out, to include a larger number of subjects for identifying ESBL strains, as well as genes encoding these enzymes - extended spectrum betalactamases.

In order to prevent anestrus syndrome, we recommend further studies that aim to prevent hormone/antibiotics treatment to animals with disorders which generate this polifactorial syndrome and thus to avoid use of products based on hormone/antibiotics.

BIBLIOGRAFIE REFERENCES

1. Adams, G. P. 1999 - Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 54:17-32.
2. Ahmadzadeh, A., K. Carnahan, and C. Autran. 2011 - Understanding puberty and postpartum anestrus. In: *Proc. Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle*. Pg45.
3. Ambrose D, Colazo M. 2007 - Reproductive status of dairy herds in Alberta: a closer look. In: *Advances in Dairy Technology, Proceedings of Western Canadian Dairy Seminar*, pp. 227–244.
4. Ambrose, D. J. 2014 - Postpartum Anestrus and its Management in Dairy Cattle, in *Bovine Reproduction* (ed R. M. Hopper), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. doi: 10.1002/9781118833971.ch52.
5. Amin RU, Bhat GR, Ahmad A, Swain, PS & Arunakumari G. 2013 - Understanding pathophysiology of retained placenta and its management in cattle - a review. *Veterinary Clinical Science*, 1 (1): 01-09.
6. Arthur G.H., Noakes D.E., Parkinson T.J., England G.C.W. 2001 - *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*, 8th Edition, Saunders Ltd.; ISBN-13: 978-0702025563.
7. Awasthi MK, Kavani FS, Siddiquee GM, Sarvaiya NP, Derashri HJ. 2007 - Is slow follicular growth the cause of silent estrus in water buffaloes? *Anim. Reprod. Sci.* 99: 258 – 268.
8. Baker LN, Woehling HL, Casida LE, Grummer RH 1953 - Occurrence of estrus in sows following parturition. *J. Anim. Sci.* 12: 33.
9. Barlund CS., Carruthers TD., Waldner CL., Palmer CW. 2008 - A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology* 2008; 69::714–723.
10. Bartolome JA, Archbald LF, Morresey P, Hernandez J, Tran T, Kelbert D, et al. 2000 - Comparison of synchronization of ovulation and induction of estrus as therapeutic strategies for bovine ovarian cysts in the dairy cow. *Theriogenology*; 53:815–25.
11. Bauman D, Currie W. 1980 - Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostatis and homeorhesis. *J Dairy Sci*; 63:1514–1529.
12. Beam S, Butler W. 1999 - Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J Reprod Fertil*; 54:411–424.
13. Benzaquen ME, Risco CA, Archbald LF, Melendez P, Thatcher MJ, Thatcher WW, 2007 - Rectal temperature, calving-related factors, and the incidence of puerperal metritis in postpartum dairy cows. *J Dairy Sci* 90(6): 2804-2814.
14. Bicalho RC, Galvao KN, Cheong SH, Gilbert RO, Warnick LD and Guard CL. 2007 - Effect of stillbirths on dam survival and reproduction performance in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 90 (6): 2797-2803.

15. Bonnet BN., Martin SW., Meek AH. 1993 - Associations of clinical findings, bacteriological and histological results of endometrial biopsy with reproductive performance of postpartum dairy cows. *Prev Vet Med*; 15:205-20.
16. Bonneville-Hébert, Ariane, et al. 2011 - Effect of reproductive disorders and parity on repeat breeder status and culling of dairy cows in Quebec. *Canadian Journal of Veterinary Research* 75.2, 147-151.
17. Borsberry, S. and Dobson, H. 1989 - Periparturient diseases and their effect on reproductive performance in five dairy herds. *Veterinary Record* 124: 217-219.
18. Bostedt H. Kozicki LE, Finger KH, und Karg H. 1985 - Untersuchungen tiber den Einflul3 verschiedener Haltungsbedingungen auf postpartale Regenerationsvorgange am Genitaltrakt von Milchkilhen unter besonderer Berficksichtigung der Progesteron-profile. *Reprod Domest Anim*; 20: 17-33.
19. Bosu W.T.K., Peter A.T. 1987 - Evidence for a role of intrauterine infections in the pathogenesis of cystic ovaries in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 28, 725-736.
20. Bouzebda F Guellati M A and Grain F. 2006 - Evaluation des paramètres de la gestion de la reproduction dans un élevage du nord est algérien. *Sciences et Technologie C- N°24*, 13-16.
21. Bruun J, Ersbøll AK, Alban L. 2002 - Risk factors for metritis in Danish dairy cows. *Prev Vet Med* 54, 179-190.
22. Butler ST, Pelton SH, Knight PG, Butler WR. 2008 - Follicle-stimulating hormone isoforms and plasma concentrations of estradiol and inhibin a in dairy cows with ovulatory and non-ovulatory follicles during the first postpartum follicle wave. *Domest Anim Endocrinol*; 35:112-9.
23. Butler W.R. 2000 - Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci* 60-61:449-57.
24. Butler W.R. 2003 - Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Prod Sci*;83:211-218.
25. Canfield RW, Butler WR. 1990 - Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. *Domest Anim Endocrinol*; 7:323-30.
26. Cernescu H. 2004 - Ginecologie veterinară. Editura Cecma Partner, Timișoara.
27. Chauhan FS, Takkar OP, Tiwana MS. 1976 - A note on incidence of gestational estrus in buffaloes and cattle. *Indian Vet. J.* 53: 77.
28. Chebel, R. C., Santos, J. E., Reynolds, J. P., Cerri, R. L., Juchem, S. O., & Overton, M. 2004 - Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 84(3), 239-255.
29. Clinical and Laboratory Standards Insitute, 2014 - Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-fourth International Supplement M100-S24., Wayne, PA, USA: CLSI.
30. Colazo MG, Ambrose DJ, Hayirli A, Doepel L. 2007 - Prepartum feed restriction and fatty acid supplementation influence reproductive performance of dairy cows. *J Dairy Sci*; 90:328.
31. Correa, M. T., H. Erb, and J. Scarlett. 1993 - Path analysis for seven postpartum disorders of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 76:1305-1312.
32. Crane MB, Melendez P, Bartolome J, de Vries A, Risco C, Archbald LF. 2006 - Association between milk production and treatment response of ovarian cysts in lactating dairy cows using the Ovsynch protocol. *Theriogenology*;66:1243-8.

33. Crowe M, Padmanabhan V, Mihm M, Beitins Z, Roche F. 1998 - Resumption of follicular waves in beef cows is not associated with periparturient changes in follicle-stimulating hormone heterogeneity despite major changes in steroid and luteinizing hormone concentrations. *Biol Reprod*; 58:1445–1450.
34. Crowe, M. A. Mullen M.P. 2013 - Regulation and Differential Secretion of gonadotropins during postpartum recovery of reproductive function in beef and dairy cows.
35. Dallenne C., Costa D.A, Decre D., Favier C., Arle G. 2010 - Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important β -lactamases in Enterobacteriaceae, *J Antimicrob Chemother*, vol. 65, p. 490–495.
36. Darwash A, Lamming G, Woolliams J. 1997 - The phenotypic association between the interval to postpartum ovulation and traditional measures of fertility in dairy cattle. *Anim Reprod Sci*; 65:9–16.
37. Das, R., Sailo, L., Verma, N., Bharti, P., Saikia, J., Imtiwati, null, Kumar, R. 2016 - Impact of heat stress on health and performance of dairy animals: A review. *Vet World* 9, 260–268. doi:10.14202/vetworld.2016.260-268.
38. Dobson H, Smith R, Royal M, Knight CH, Sheldon I. 2007 - The high producing dairy cow and its reproductive performance. *Reprod Domest Anim*; 42:17–23.
39. Dobson, H., Smith, R.F. 2000 - What is stress, and how does it affect reproduction? *Anim. Reprod. Sci.* 60-61, 743–752.
40. Dohmen M.J.W., Joop K., Sturk A., Bols P.E.J., Lohuis J.A.C.M. 2000 - Relationship between intra-uterine bacterial contamination, endotoxin levels and the development of endometritis in postpartum cows with dystocia or retained placenta. *Theriogenology*, 54, 1019–1032.
41. Drillich M., Voigt D., Forderung D., Heuwieser, W. 2007 - Treatment of acute puerperal metritis with flunixin meglumine in addition to antibiotic treatment. *J Dairy Sci*; 90: 3758–3763.
42. Drillich Marc 2006 - An update on uterine infections in dairy cattle *Slov Vet Res*; 43 (1): 11-5 UDC 619:618.14-002:636.2.
43. Drillich M., Mahlstedt M., Reichert U., Tenhagen BA., Heuwieser W. 2006 - Strategies to improve the therapy of retained fetal membranes in dairy cows. *J Dairy Sci.*; 89:627-35.
44. Drugociu D. 2001 - Reproducție, Însămânțări artificiale și ginecologie veterinară. Casa de Editură Venus, Iași.
45. Drugociu D. 2009 - Bolile obstetricale-ginecologice la animale. Ediția a II-a. Ed. Ion Ionescu de la Brad. Iași.
46. Drugociu D. și Drugociu D.S. 2015 - Patologie genitală și a glandei mamare la animale. Editura Ion Ionescu de la Brad, Iași, ISBN 978-973-147-200-3.
47. Dubuc, J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, J. S. Walton, and S. J. LeBlanc. 2010 - Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:5764–5771.
48. Ducrot C, Gröhn YT, Humblot P, Bugnard F, Sulpice P, Gilbert R. 1994 - Postpartum anestrus in French beef cattle: an epidemiological study. *Theriogenology*; 42:753–764.
49. Durocher J, Morin N, Blondin P. 2005 - Effect of hormonal stimulation on bovine follicular response and oocyte developmental competence in a commercial operation. *Theriogenol.*, 65:102-115.

50. El-Desouky, A.M. & Hussein, M.S. 2015 - Therapeutic effect of single over-dose of PGF2 α on typical postpartum anestrus in dairy cows. *Benha Veterinary Medical Journal*, Vol. 28, No. 1:1-7.
51. Eslamizad, M., Lamp, O., Derno, M., Kuhla, B., 2015 - The control of short-term feed intake by metabolic oxidation in late-pregnant and early lactating dairy cows exposed to high ambient temperatures. *Physiol. Behav.* 145, 64–70. doi:10.1016/j.physbeh.2015.03.044.
52. Esslemont R.J. 1982 - Economic aspects related to cattle infertility and the postpartum interval. In: 'Factors influencing fertility in the postpartum cow', eds Karg H, and Schallenberger E. Current topics in veterinary medicine and animal science. Martinus Nijhoff Publishers, the Hague; 20: 442-58.
53. Esslemont, D., Kossaibati, M.A., 2002 - The Cost of Poor Fertility and Disease in UK Dairy Herds. Intervet UK Ltd., City, p. 146.
54. Esslemont, R.J., Kossaibati, M.A., 1996 - Incidence of production diseases and other health problems in a group of dairy herds in England. *Veterinary Record* 139, 486–490. doi:10.1136/vr.139.20.486.
55. Etherington WG, Christie KA, Walton JS, Leslie K.E., Wickstrom S, Johnson WH. 1991 - Progesterone profiles in postpartum Holstein dairy cows as an aid in the study of retained fetal membranes, pyometra and anestrus. *Theriogenology*; 35:731–46.
56. Farin PW, Estill CT. 1993 - Infertility due to abnormalities of the ovaries in cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*; 9:291–308.
57. Faust MA, McDaniel AB, Robinson OW, Britt JH. 1988 - Environmental and yield effects on reproduction in primiparous Holsteins. *J Dairy Sci*; 71:3092.
58. Fazeli M, Ball L, Olson JD. 1980 - Comparison of treatment of pyometra with estradiol cypionate or cloprostenol followed by infusion or non-infusion with nitrofurazone. *Theriogenology*; 14:339–47.
59. Fernandes LC, Thatcher WW, Wilcox CJ, and Call EP. 1978 - LH Release in response to GnRH during the postpartum period of dairy cows. *J Anim Sci*; 46: 443-8.
60. Ferry J. 1997 - Clinical Management of Anestrus. In: Youngquist RS, editor. *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. WB Saunders; p. 285–9.
61. Fielden ED, Harris RE, Macmillan KL, Shrestha SL. 1980 - Some aspects of reproductive performance in selected town-supply dairy herds. *NZ Vet J*; 131–132:141–2.
62. Fo'ldi J, Kulcsa'r M, Pe'csi A, Huyghe B, de Sa C, Lohuis JA, Cox P, et al. 2006 - Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Anim Reprod Sci*; 96:265–81.
63. Fortune JE 2003 - The early stage of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Anim. Reprod. Sci.* 78: 135 – 163.
64. Fortune JE, Rivera GM, Yang MY. 2004 - Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim Reprod Sci*; 82–83:109–26.
65. Foster JP, Lamming GE, and Peters AR. 1980 - Short-term relationships between plasma LH, FSH and progesterone concentrations in post-partum dairy cows and the effect of GnRH injection. *J Reprod Fert*; 59: 321-7.

66. Franco, M., 2006 - Strategies to enhance fertility in dairy cattle during summer including use of cryopreservation of in vitro produced embryos, (unpublished. MSc Thesis, University of Florida).
67. Gaafar H.M.A., Shamiah ShM, Shitta AA, Ganah HAB. 2010 - Factors affecting retention of placenta and its influence on postpartum reproductive performance and milk production in Friesian cows. *Slovak J Anim Sci* 43(1): 6-12.
68. Garbarino E, Hernandez J, Shearer J, Risco C, Thatcher W. 2004 - Effect of lameness on ovarian activity in postpartum Holstein cows. *J Dairy Sci*; 87:4123–4131.
69. Garcia M.E., Quintela L.A., Taboada M.J., Alonso G., Varela-Portas B., Diaz C., Barrio M., Becerra J.J., Pena A.I., Herradon P.G. 2003 - The effect of metritis in reproductive performance in dairy cows. *Archivos de Zootecnia*, 52, 409–412.
70. Garverick HA 2007 - Ovarian follicular cysts. In: *Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (eds R. S. Youngquist and W. R. Threlfall). Saunders Elsevier., St Louis, MO. p. 379 – 383.
71. Gary F, Humblot P, Cappy C, Gouffe D, Thibier M. 1987 - Facteurs de variation de la reprise d'activité ovarienne après vêlage en race Blonde d'Aquitaine et leurs effets sur les paramètres de reproduction. *Elev et Insem*; 222:13-28.
72. Gaur, M. and G. N. Purohit 2007 - Follicular dynamics in Rath (Bos indicus) cattle. *Vet. arhiv* 77, 177-186.
73. Ghoribi L. 2000 - Bilan de reproduction dans deux exploitations bovines laitières dans la wilaya d'El-Taref. Thèse de Magister, Faculté des Sciences, Département de Biologie, Université Badji Mokhtar d'Annaba Algérie.
74. Ghoribi L., S Hireche and M H Chibat 2012 - Study of some reproductive parameters in bovine dairy farms in the east of Algeria. *Livestock Research for Rural Development* 24 (2).
75. Ghuman SPS, Singh J, Honparkhe M, Dadarwal D, Dhaliwal GS, Singh S.T. 2010 - Fate of dominant follicle in summer anestrus buffaloes. *Indian J. Anim. Reprod.* 31(2): 7 – 10.
76. Gier H.T., Marion G.B. 1968 - Uterus of the cow after parturition: involutional changes. *Am. J. Vet. Res.*; 29:83–96.
77. Gilbert RO., Shin ST., Guard CL., Erb HN., Frajblat M. 2005 - Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*; 64:1879-1888.
78. Gilbert, R. O. 2016 - Management of Reproductive Disease in Dairy Cows. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 32(2), 387-410.
79. Gilbert, R.O. 2011 - The effects of endometritis on the establishment of pregnancy in cattle. *Reprod. Fertil. Dev.* 24, 252–257.
80. Gong J, Campbell B, Bramley T, Gutierrez C, Peters A, Webb R. 1996 - Suppression in the secretion of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone, and ovarian follicle development in heifers continuously infused with a gonadotropin-releasing hormone agonist. *Biol Reprod*; 55:68–74.
81. Gröhn Y.T., Rajala-Schultz PJ, 2000 - Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 60/61: 605-614.
82. Groza I.Șt. 2006 - Ginecologie, andrologie și obstetrică veterinară., Ed. Academiei Române, București.
83. Groza I.Șt., Morar I. 2004 – Andrologie veterinară. Ed. Gryphon, Brașov.

84. Groza I.Șt., Muntean M. 2002 - Elemente de fiziologia reproducției la animale. Academic Press.
85. Grummer RR. - Strategies to improve fertility of high yielding dairy farms: management of the dry period. *Theriogenology*;68:5281–8.
86. Gümen A, Rastani R, Grummer R, Wiltbank M. 2005 - Reduced dry periods and varying prepartum diets alter postpartum ovulation and reproductive measures. *J Dairy Sci*;88: 2401–2411.
87. Guyot H., Theron L., Frisee V., Hanzen C., Rollin F. 2014 - Carnet clinique de médecine de troupeau. Université de Liège Faculté de Médecine vétérinaire – CVU Département des Animaux de production, Liège, , 154 pages.
88. Hadush A, Abdella A, Regassa F. 2013 - Major prepartum and postpartum reproductive problems of dairy cattle in Central Ethiopia. *J. Vet. Med. Anim. Health.*;5(4):118–123.
89. Han, I.K., Kim, I.H., 2005 - Risk factors for retained placenta and the effect of retained placenta on the occurrence of postpartum diseases and subsequent reproductive performance in dairy cows. *Journal of Veterinary Science*, 6 (1), 53–59.
90. Hansen P. 1985 - Seasonal modulation of puberty and the postpartum anestrus in cattle: a review. *Livestock Prod Sci*;12:309–327.
91. Hanzen, C., Pieterse, M., Scenczi, O., Drost, M. 2000 - Relative accuracy of the identification of ovarian structures in the cow by ultrasonography and palpation per rectum. *Veterinary Journal*, 159:161-170.
92. Harrison RO, Ford SP, Young JW, Conley AJ, Freeman AE. 1990 - Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. *J Dairy Sci*; 73:2749–58.
93. Hartmann A., Locatelli A., Amoureux L., Depret G., Jolivet C., Gueneau E. 2012 - Occurrence of CTX-M producing *Escherichia coli* in soils, cattle, and farm environment in France (Burgundy Region). *Front. Microbiol.* 3:83.
94. Herath, S., Lilly, S.T., Fischer, D.P., Williams, E.J., Dobson, H., Bryant, C.E., Sheldon, I.M., 2009 - Bacterial lipopolysaccharide induces an endocrine switch from prostaglandin F2 alpha to prostaglandin E2 in bovine endometrium. *Endocrinology* 150, 1912–1920.
95. Heuwiesser W., Tenhagen BA., Tischer M., Luhr J., Blum H. 2000 - Effect of three programmes for the treatment of endometritis on the reproductive performance of a dairy herd. *Vet Rec*; 146:338-41.
96. Horton RA, Randall LP, Snary EL, Cockrem H, Lotz S, Wearing H, Duncan D, Rabie A, McLaren I, Watson E, La Ragione RM, Coldham NG. 2011 - Fecal carriage and shedding density of CTX-M extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in cattle, chickens, and pigs: implications for environmental contamination and food production. *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 3715– 3719.
97. Houe, H., Ostergaard, S., Thilising-Hansen, T., Jorgensen, R.J., Larsen, T., Sorensen, J.T., Agger, J.F. and Blom, J.Y. 2001 - Milk fever and subclinical hypocalcaemia – an evaluation of parameters on incidence risk, diagnosis, risk factors and biological effects as input for a decision support system for disease control. *Acta Vet. Scand.* 42:1-29.
98. Huang T.D., Bogaerts P., Biren C., Guisset A., Glupczynski Y., 2010 - Evaluation of Brilliance ESB agar, a novel chromogenic medium for detection of extended-

- spectrum-beta- lactamase-producing Enterobacteriaceae., J. Clin. Microbiol, vol. 48, p. 2091–2096.
99. Huszenicza G, Haraszti J, Molnar L, Solti L, Fekete S, Ekes K, and Yaro AC. 1988 - Some metabolic characteristics of dairy cows with different post partum ovarian function. J Vet Med A; 35: 506-15.
100. Janowski T., Barański W., Łukasik K., Skarżyński D., Rudowska M., Zduńczyk S. 2013 - Prevalence of subclinical endometritis in repeat breeding cows and mRNA expression of tumor necrosis factor α and inducible nitric oxide synthase in the endometrium of repeat breeding cows with and without subclinical endometritis. Polish Journal of Veterinary Sciences Vol. 16, No. 4, 693–699.
101. Jolly P, McDougall S, Fitzpatrick L, MacMillan K, Entwistle K. 1995 - Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows. J Reprod Fertil Suppl;49:477–492.
102. Jorritsma R, Wensing T, Kruip TA, Vos PL, Noordhuizen JP. 2003 - Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. Vet Res;34:11–26.
103. Kadokawa, H., Sakatani, M. and Hansen, P.J. 2012 - Perspectives on improvement of reproduction in cattle during heat stress in a future Japan. Anim. Sci. J., 83(6): 439-445.
104. Kadzere, C.T., Murphy, M.R., Silanikove, N. and Maltz, E. 2002 - Heat stress in lactating dairy cows: A review. Livest. Prod. Sci., 77(1): 59-91.
105. Kaikini FS, Fasihuddin M 1984 - Incidence of gestational oestrus I Sahiwal and Gir cow. Indian J. Anim. Sci. 54 (9): 886 – 887.
106. Kaneene JB, Miller R, Herdt TH, Gardiner JC. 1997 - The association of serum nonesterified fatty acids and cholesterol, management and feeding practices with peripartum disease in dairy cows. Prev Vet Med; 31:59–72.
107. Karg H, und Schallenberger E. 1983 - Regulation der ovariellen Steroidhormonsekretion postpartum. Wien Tierärztl Monat; 70:238-43.
108. Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson W.H. 2004 - Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. Theriogenol., 62:9-23.
109. Kasimanickam R., Duffield TF., Foster RA., Gartley CJ., Leslie KE., Walton JS., and. Johnson WH. 2005 - The effect of a single administration of cephalixin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. Theriogenology,; 63: 818-830.
110. Kawashima C, Kaneko E, Amaya Montoya C. 2006 - Relationship between the first ovulation within three weeks postpartum and subsequent ovarian cycles and fertility in high producing dairy cows. J Reprod Dev;52:479–486.
111. Kawate N. 2004 - Studies on the regulation of expression of luteinizing hormone receptor in the ovary and the mechanism of follicular cyst formation in ruminants. J. Reprod. Dev. 50: 1 – 8.
112. Kezele P, Nilson EE, Skinner M.K. 2002 - Insulin but not insulin like growth factors–1 promotes the primordial to primary follicle transition. Mol. Cell. Endocrinol. 198 (1 – 2): 37 – 43.
113. Khan, A., M. Hassan Mushtaq, A. Wali Khan, M. Chaudhry and A. Hussain, 2015 - Descriptive Epidemiology and Seasonal Variation in Prevalence of Milk Fever in KPK (Pakistan). Global Vet., 14: 472-477.

114. Kim I, Jeong J, Kang H. 2012 - Field investigation of whether corpus luteum formation during weeks 3–5 postpartum is related to subsequent reproductive performance of dairy cows. *J Reprod Dev*;58:552–556.
115. Kim I, Suh G. - Effect of the amount of body condition loss from the dry to near calving periods on the subsequent body condition change, occurrence of postpartum diseases, metabolic parameters and reproductive performance in Holstein dairy cows. *Theriogenology*;60:1445–1456.
116. Kimura, K., T.A. Reinhardt and J.P. Goff 2006 - Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89: 2588-2595.
117. Knickerbocker JJ, Thatcher WW, Foster DB, Wolfenson D, Bartol FF, Caton D. 1986 - Uterine prostaglandin and blood flow responses to estradiol-17b in cyclic cattle. *Prostaglandins*;31:757–76.
118. Knickerbocker JJ, Thatcher WW, Foster DB, Wolfenson D, Bartol FF, Caton D. 1986 - Uterine prostaglandin and blood flow responses to estradiol-17b in cyclic cattle. *Prostaglandins*;31:757–76.
119. Kruip TAM, Wensing T, Vos PLAM. 2001 - Characteristics of abnormal puerperium in dairy cattle and the rationale for common treatments. *Occ Publ Br Soc Anim Sci*;26:63–79.
120. Kumar P.R, Singh S.K, Kharche S.D, Govindaraju C.S, Behera B.K, Shukla S.N, Kumar H, Agarwal S.K. 2014 - Anestrus in cattle and buffalo: Indian perspective. *Adv. Anim. Vet. Sci.*;2(3):124–138.
121. Kumar V., Purohit G. N. 2009 - Ultrasonographic Diagnosis of the Bovine Genital Tract Disorders, *Online Veterinary Journal*; Vol. 4 No. 2, Article 43.
122. Kyle S, Callahan C, Allrich R. 1992 - Effect of progesterone on the expression of estrus at the first postpartum ovulation in dairy cattle. *J Dairy Sci*; 75:1456–1460.
123. Lamming GE, Peters AR, Riley GM, and Fisher MW. 1982 - Endocrine regulation of postpartum function. In: 'Factors influencing fertility in the postpartum cow', eds Karg H, and Schallenberger E. *Current topics in veterinary medicine and animal science Vol 20* Martinus Nijhoff Publishers, The Hague: 148-72.
124. Lamming GE, Wathes DC, and Peters AR. 1981 - Endocrine patterns of the post-partum cow. *J Reprod Fertil*; 30: 155-70.
125. LeBlanc SJ. 2008 - Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *Vet J*;176: 102–114.
126. Lee, J.I., Kim, I.H. 2007 - Pregnancy loss in dairy cows: the contributing factors, the effects on reproductive performance and the economic impact. *J. Vet. Sci.* 8, 283–288.
127. Lenz M, Drillich M, Heuwieser W. 2007 - Evaluation of the diagnosis of subclinical endometritis in dairy cattle using ultrasound. *Berl Munch Tiera. Woch.* 120:237-44.
128. Lewis G.S. 1997 - Health problem of the postpartum cow: Uterine health and disorders. *J Dairy Sci*, 80, 984-994.
129. Lewis GS. 2004 - Steroidal regulation of uterine immune defenses. *Anim Reprod Sci*; 82–83: 281–294.
130. López de Maturana E, Legarra A, Varona L, Ugarte E. 2007 - Analysis of fertility and dystocia in Holsteins using recursive models to handle censored and categorical data. *J Dairy Sci. Apr*; 90(4):2012-24.

131. Lopez H, Caraviello DZ, Satter LD, Fricke PM, Wiltbank MC. 2005 - Relationship between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*;88:2783–93.
132. Lopez H, Satter LD, Wiltbank MC 2004 - Relation between level of milk production and estrus behavior of lactating dairy cow. *Anim. Reprod. Sci.* 81: 209 – 223.
133. Lopez-Gatius F, Mirzaei A, Santolaria P, Bech-Sa`bat G, Nogareda C, Garcia-Ispuerto I. 2008 - Factors affecting the response to the specific treatment of several forms of clinical anestrus in high producing dairy cows. *Theriogenology*;69:1095–103.
134. López-Gatius F, Santolaria P, Yániz J, Fenech M, López-Béjar M. 2002 - Risk factors for postpartum ovarian cysts and their spontaneous recovery or persistence in lactating dairy cows. *Theriogenology*;58:1623–1632. doi: 10.1016/S0093-691X(02)01046-4.
135. Lopez-Gatius F, Santolaria P, Yaniz J, Rutllant J, Lopez-Bejar M. 2001 - Persistent ovarian follicles in dairy cows: a therapeutic approach. *Theriogenology*;56:649–59.
136. Lucy M. 2007 - Fertility in high-producing dairy cows: reasons for decline and corrective strategies for sustainable improvement. *Soc Reprod Fertil Suppl*;64:237–254.
137. Luktuke SN, Roy JD, Josi SR. 1964 - Studies on gestational estrus in bovines. *Indian J. Vet. Sci.* 34: 41.
138. Lyimo ZC, Nielen M, Ouweltjes W, Kruip TA, Van Eerdenburg FJ. 2000 - Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. *Theriogenol.* 53: 1783 – 1795.
139. Madhuri G., M. Rajashri and Surabhi Kesharwani 2017 - Post-partum anoestrus in dairy cows: a review. *International Journal of Science, Environment and Technology*, Vol. 6, No 2, 2017, 1447 – 1452, ISSN 2278-3687 (O).
140. Maizon D.O., Oltenacu P.A., Grohn Y.T., Strawderman R. L., Emanuelson U. 2004 - Effect of diseases on reproductive performance in Swedish Red and White dairy cattle. *Preventative Veterinary Medicine*, 66, 113–126.
141. Malven PV, Parfet JR, Gregg DW, Allrich RD, Moss GE. 1986 - Relationships among concentrations of opioid neuropeptides and luteinizing hormone in neural tissues of beef cows following early weaning. *J. Anim. Sci.* 62: 723 – 733.
142. Markusfeld O. 1987 - Inactive ovaries in high-yielding dairy cows before service: aetiology and effect on conception. *Vet Rec*; 121:149–53.
143. Masilo BS, Stevenson JS, Schalles RR, and Shirley JE. 1992 - Influence of genotype and yield and composition of milk on interval to first postpartum ovulation in milked beef and dairy cows. *J Anim Sci*; 70: 379-85.
144. Mateus L, da Costa LL, Bernardo F, Silva JR. 2002 - Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. *Reprod Domest Anim*;37: 31–5.
145. Mayne CS, McCoy MA, Lennox SD, Mackey DR, Verner M, Catney DC. 2002 - Fertility of dairy cows in Northern Ireland. *Vet Rec*;150:707–13.
146. McCracken JA, Custer EE, Lamsa JC. 1999 - Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. *Physiol. Rev.* 79: 263 – 323.

147. McDougall S, Burke CR, MacMillan KL, Williamson NB. 1995 - Patterns of follicular development during periods of anovulation in pasture-fed dairy cows after calving. *Res Vet Sci*;58:212–6.
148. McLaughlin EA, McIver SC. 2009 - Awakening the oocyte: controlling primordial follicle development. *Reprod.* 137: 1 – 11.
149. McNatty KP, Hudson N, Gibb M, Henderson KM, Lun S, Heath D. and Montgomery GW. 1984 - Seasonal differences in ovarian activity in cows. *J Endocrinol*; 102: 189-98.
150. Montiel, F., Ahuja, C. 2005 - Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Animal Reproduction Science* 85, 1–26. doi:10.1016/j.anireprosci.2003.11.001.
151. Moreira F, Orlandi C, Risco C, Mattos R, Lopes F, Thatcher W. 2001 - Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*;84:1646–1659.
152. Morrow D, Roberts S, McEntee K, Gray H. 1966 - Postpartum ovarian activity and uterine involution in dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc*;149:1596–1609.
153. Mulligan, F.J., O'Grady, L., Rice, D.A. and Doherty, M.L. 2006 - A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Animal Reproduction Science* 96: 331-353.
154. Murphy, M.G., Enright, W.J., Crowe, M.A., McConnell, K., Spicer, L.J., Boland, M.P. & Roche, J.F. 1991 - Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle in beef heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 92 333-338.
155. Murray RD., Allison JD., Gard RO. 1990 - Bovine endometritis: comparative efficacy of alfaprostol and intra-uterine therapies, and other factors influencing clinical success. *Vet Rec*;127:86-90.
156. Nadarajah K, Burnside EB, Schaeffer LR. 1989 - Factors affecting gestation length in Ontario Holsteins. *Can J Anim Sci.*;69:1083–1086.
157. Nelson, S. T., Martin, A. D., & Østerås, O. 2010 - Risk factors associated with cystic ovarian disease in Norwegian dairy cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52(1), 60.
158. Nett TM. 1987 - Function of the hypothalamic-hypophysial axis during the postpartum period in ewes and cows. *J Reprod Fertil*; 34: 201-13.
159. Noakes DE, Wallace LM, Smith GR. 1990 - Pyometra in a Friesian heifer: bacteriological and endometrial changes. *Vet. Rec.* 126: 509.
160. Norman HD, Wright JR, Kuhn MT, Hubbard SM, Cole JB, VanRaden PM. 2009 - Genetic and environmental factors that affect gestation length in dairy cattle. *J Dairy Sci.* May; 92(5):2259-69.
161. Oltenacu PA, Britt JH, Braun RK, Mellenberger RW. 1983 - Relationships among type of parturition, type of discharge from genital tract, involution of cervix, and subsequent reproductive performance in Holstein cows. *J Dairy Sci*, 66, 612-619.
162. Opsomer G and Kruif A. 2009 - Metritis and endometritis in high yielding dairy cows. *VlaamsDiergeneeskundigTijdschrift*, 78: 83-88.
163. Opsomer G, Gröhn Y, Hertl J, Coryn M, Deluyker H, de Kruif A. 2000 - Risk factors for postpartum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology*; 53:841–857.

164. Opsomer G, Mijten P, Coryn M, de Kruif A. 1996 - Postpartum anoestrus in dairy cows: a review. *Vet Q*;18:68–75.
165. Østergaard S., Sørensen J.T. 1998 - A review of the feeding-health-production complex in a dairy herd. *Prev.Vet. Med.*, 36, 109–129.
166. Overton T. 2012 - Feeding and managing dairy cows for improved early cyclicity. In: *Proceedings of the Dairy Cattle Reproduction Conference*, Sacramento, CA, 8–9 November. Champaign, IL: Dairy Cattle Reproduction Council, 2012, pp. 32–40.
167. Paccard P. 1981 - Milieu et reproduction chez la femelle bovine. In: *Milieu, pathologie et prevention chez les ruminants*. INRA Pub1,;147-163.
168. Patel O, Takenouchi N, Takahashi T, Hirako M, Sasaki N, Domeki I. 1999 - Plasma oestrone and oestradiol concentrations throughout gestation in cattle: relationship to stage of gestation and fetal number. *Res Vet Sci*; 66:129–133.
169. Peake K, Biggs A, Argo C. 2011 - Effects of lameness, subclinical mastitis and loss of body condition on reproductive performance of dairy cows. *Vet Rec*;168:301–306.
170. Peter A.T., Vos P.L.A.M. & Ambrose D.J. 2009 - Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology*, 71(9), 1333-1342.
171. Peter AT. 2004 - An update on cystic ovarian degeneration in cattle. *Reprod Domest Anim*;39:1–7.
172. Peters AR, and Lamming GE. 1984 - Reproductive activity of the cow in the post-partum period: II. Endocrine patterns and induction of ovulation. *Brit Vet J*; 140: 269-80.
173. Petersson KJ, Gustafsson H, Strandberg E, Berglund B 2006 - Atypical progesterone profiles and fertility in Swedish dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89: 2529 – 2538.
174. Petersson KJ, Strandberg E, Gustafsson H, Royal MD, Berglund B. 2008 - Detection of delayed cyclicity in dairy cows based on progesterone content in monthly milk samples. *Prevent Vet Med*;86:153–63.
175. Pineda, M.H. & Dooley, M.P. 2003 - McDonald, *Veterinary Endocrinology and Reproduction* 5th Ed., International Standard. USA.
176. Pleasants A, McCall D. 1993 - Relationships among post-calving anoestrous interval, oestrous cycles, conception rates and calving date in Angus and Hereford × Friesian cows calving in six successive years. *Anim Prod*;56:187–192.
177. Poole T.L., T.R. Callaway, K.N. Norman, H.M. Scott, G.H. Loneragan, S.A. Ison, R.C. Beier, D.M. Harhay, B. Norby, D.J. Nisbet. 2017 - Transferability of antimicrobial resistance from multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from cattle in the USA to *E. coli* and *Salmonella* Newport recipients. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, Vol. 11: 123-132.
178. Przysucha T, Grodzki H. 2009 - The influence of selected factors on beef breed cows pregnancy length (in Polish) *Rocz Nauk Pol Tow Zoot.*;5:65–72.
179. Ptaszynska Monika 2009 - *Compendium of Animal Reproduction*, 10th revised edition, Intervet International bv, ISBN 90-801886-6-2.
180. Rajala P, Gröhn Y. 1998 - Disease occurrence and risk factor analysis in Finnish Ayrshire cows. *Acta Vet Scand*;39:1–13.

181. Rajamahendran R, Taylor C. 1990 - Characterization of ovarian activity in postpartum dairy cows using ultrasound imaging and progesterone profiles. *Anim Reprod Sci*; 22:171–80.
182. Rhodes FM, Burke CR, Clark BA, Day ML, Macmillan KL. 2002 - Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles. *Anim Reprod Sci*;69:139–50.
183. Rhodes FM, McDougall S, Burke CR, Verkerk GA, Macmillan KL. 2003 - Invited review: treatment of cows with an extended postpartum anestrous interval. *J Dairy Sci*;86:1876–94.
184. Robinson, J.J., 1990 - Nutrition in the Reproduction of Farm Animals. *Nutrition Research Reviews* 3, 253–276. doi:10.1079/NRR19900015.
185. Roche JF, Diskin MD. 2001 - Resumption of reproductive activity in the early postpartum period of cows. *Occ Publ Br Soc Anim Sci*;26:31–42.
186. Roche JF, Mihn M, Diskin MG, Ireland JJ. 1998 - A review on regulation of follicle growth in cattle. *J. Anim. Sci.* 76 (Suppl. 3): 16 – 19.
187. Roche, J.F. 2006 - The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science, Special Issue: Nutrition and Fertility in Dairy Cattle* 96, 282–296. doi:10.1016/j.anireprosci.2006.08.007.
188. Rosenberg, L.M. 2010 - Cystic Ovaries in Dairy Cattle. Dairy Science Department California.
189. Roth Z, Meidan R, Shaham-Albalancy A, Braw-Tal R, Wolfenson D. 2001 - Delayed effect of heat stress on steroid production in medium-sized and preovulatory bovine follicles. *Reproduction*;121:745–51.
190. Ruginosu E. 1999 - Research on the development and fertility of cow's puerperium. PhD Thesis, Iasi.
191. Runceanu L., Cotea C. 2001 - Obstetrică și ginecologie veterinară. Ed. Ion Ionescu de la Brad. Iași.
192. Runceanu L., Cotea C. 2007 - Reproducție, obstetrică și ginecologie veterinară, Ed. Ion Ionescu de la Brad, Iași.
193. Runceanu L., Cotea C., Drugociu D., Roșca P. 2007 -. Reproducție, Obstetrică și Ginecologie Veterinară, Editura „Ion Ionescu de la Brad”, Iași, ISBN 978-973-7921-90-1.
194. Sakaguchi M, Sasamoto Y, Suzuki T, Takahashi Y, Yamada Y. 2006 - Fate of cystic ovarian follicles and the subsequent fertility of early postpartum dairy cows. *Vet Rec*;159:197–201.
195. Sakaguchi M. 2010 - Oestrous expression and relapse back into anoestrus at early partpartum ovulations in fertile dairy cows. *Vet Rec*; 167:446–450.
196. Sangsritavong S, Combs DK, Sartori R, Wiltbank MC. 2002 - High feed intake increases blood flow and metabolism of progesterone and estradiol –17 β in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85: 2831 – 2842.
197. Santos J, Rutigliano H, Sá Filho M. 2009 - Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci*;110:207–221.

198. Sarder MJU, Moni MIZ and Aktar S. 2010 - Prevalence of reproductive disorders of cross breed cows in the Rajshahi district of Bangladesh. *SARC journal of Agriculture*. 8 (2): 65-75.
199. Sascha D. Braun, Marwa F. E. Ahmed, Hosny El-Adawy, Helmut Hotzel, Ines Engelmann, Daniel Weiß, Stefan Monecke, Ralf Ehricht, 2016 - Surveillance of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Dairy Cattle Farms in the Nile Delta, Egypt, *Frontiers in Microbiology*, Vol.7.
200. Savio J, Thatcher W, Badinga L, De la Sota R, Wolfeusun D. 1993 - Regulation of dominant follicle turnover during the estrous cycle in cows. *J Reprod Fertil*; 97:197–203.
201. Savio JD, Boland MP, Hynes N, and Roche JF. 1990 - Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows. *J Reprod Fertil*; 88: 569-79.
202. Savio, J.D., Keenan, L., Boland, M.P. and Roche, J.F. 1988 - Pattern of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 83: 663-671.
203. Schallenberger E. 1990 - Charakterisierung von Sekretionsrythmen der Gonadotropine und Ovarsterioide während des Brunstzyklus, der Gravidität und post partum beim Rind. *Advances in Veterinary Medicine*; 40: 117.
204. Schams D, Schallenberger E, Menzer Ch, Stangl J, Zottmeier K, Hoffmann B, and Karg H. 1978 - Profiles of LH, FSH and progesterone in postpartum dairy cows and their relationship to the commencement of cyclic functions. *Theriogenology*; 10: 453-68.
205. Schmid A., Hörmansdorfer S., Messelhauser U., Käsbohrer A., Sauter-Louis C., Mansfeld R. 2013 - Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* on Bavarian dairy and beef cattle farms. *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 3027–3032.
206. Sheldon IM and Dobson H. 2004 - Postpartum uterine health in cattle. *Animal Reproduction Science*;82: 295-306.
207. Sheldon IM, Noakes DE, Rycroft AN, Pfeiffer DU, Dobson H. 2002 - Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction*;123:837–45.
208. Sheldon IM., Lewis GS., LeBlanc S., Gilbert R. 2006 - Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* in;65:1516-1530.
209. Sheldon IM., Williams EJ., Miller ANA., Nash DM., Herath S. 2008 - Uterine diseases in cattle after parturition. *Vet J*;176:115–121.
210. Sheldon, I.M., Rycroft, A.N., Zhou, C. 2004 - Association between postpartum pyrexia and uterine bacterial infection in dairy cattle. *Vet Rec*;154, 289–293.
211. Short, R. E., R. A. Bellows, R. B. Staigmiller, J. G. Berardinelli, and E. E. Custer 1990 - Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *J. Anim. Sci.* 68:799-816.
212. Silva E, Sterry RA, Fricke PM. 2007 - Assessment of a practical method for identifying anovular dairy cows synchronized for first postpartum timed artificial insemination. *J Dairy Sci*; 90:3255–62.
213. Smith J, Payne E, Tervit H. 1981 - The effect of suckling upon the endocrine changes associated with anoestrus in identical twin dairy cows. *J Reprod Fert Suppl*;30:241–249.

214. Stančić, B., Košarčić, D. 2007 - Cattle reproduction (monography in Serbian). Faculty of Agriculture, University of Novi Sad.
215. Stevenson J, Lamb G, Hoffman D, Minton J. 1997 - Interrelationships of lactation and postpartum anovulation in suckled and milked cows. *Livestock Prod Sci*;50:57–74.
216. Stevenson J, Tenhouse D, Krisher R. 2008 - Detection of anovulation by heatmount detectors and transrectal ultrasonography before treatment with progesterone in a timed insemination protocol. *J Dairy Sci*;91:2901–2915.
217. Stevenson JS, and Britt JH. 1979 - Relationships among luteinizing hormone, estradiol, progesterone, glucocorticoids, milk yield, body weight and postpartum ovarian activity in Holstein cows. *J Anim Sci*; 48: 570-7.
218. Stevenson, J. S. 2004 - Puberty and anestrus: dealing with non-cycling females. In *Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle*. North Platte, NE.
219. Sunderland, S.J., Crowe, M.A., Boland, M.P., Roche, J.F. & Ireland, J.J. 1994 - Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers. *Journal of Reproduction and Fertility* 101: 547-555.
220. Șonea A., 2003 – Biotehnici și biotehnologii de reproducție. În: Constantin N (Ed.), *Tratat de Medicină Veterinară*, Ed. Tehnică, București, pp 540-683.
221. Tesfaye D, Shamble A. 2013 - Reproductive health problems of cows under different management systems in Kombolcha, Noetheast Ethiopia. *Adv. Biomed. Res.*;7:104–108.
222. Thatcher W, Wilcox C. 1973 - Postpartum estrus as an indicator of reproductive status in the dairy cow. *J Dairy Sci*;56:608–610.
223. Thatcher WW, Macmillan KL, Hansen PJ, Drost M. 1989 - Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology*;31:149–64.
224. Vanholder T, Leroy JLMR, Van Soom A, Opsomer G, Maes D, Kruif 2005 - Effect of non-esterified fatty acids on bovine granulosa cell steroidogenesis and proliferation in vitro. *Anim. Reprod. Sci.* 87: 33 –44.
225. Wagner BA, Dargatz DA, Morley PS, Keefe TJ, Salman MD. 2003 - Analysis methods for evaluating bacterial antimicrobial resistance outcomes. *Am. J. Vet. Res.* 64: 1570– 1579.
226. Walsh R, Kelton D, Duffield T, Leslie K, Walton J, LeBlanc S. 2007 - Prevalence and risk factors for postpartum anovulatory condition in dairy cows. *J Dairy Sci*; 90:315–324.
227. Warnick AC, Casida LE, Grummer RH. 1950 - The occurrence of estrus and ovulation in postpartum sows. *J. Anim. Sci.* 9: 66.
228. Wedley AL., Maddox TW., Westgarth C., Coyne KP., Pinchbeck GL., Williams NJ., Dawson S. 2011- Prevalence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in dogs in a cross- sectional, community-based study., *Vet. Rec.*, vol. 168, p. 354.
229. Wentink GH, Rutten VPMG, van den Ingh TSGAM, Muller KE, Wensing T. 1997 - Impaired specific immunoreactivity in cows with hepatic lipidosis. *Vet Immunol Immunopathol*;56: 77–83.
230. Westwood CT, Lean IJ, Garvin JK. 2002 - Factors influencing fertility of Holstein dairy cows: multivariate description. *J Dairy Sci*; 85:3225-37.
231. Whiteford, L.C. and Sheldon, I.M. 2005 - Association between clinical hypocalcaemia and postpartum endometritis. *Veterinary Record* 157: 202-204.

- 232. Williams GL. 1990 - Suckling as a regulator of post-partum rebreeding in cattle: a review. *J. Anim. Sci.* 68: 831 – 852.
- 233. Williams, E. J., Fischer, D. P., Pfeiffer, D. U., England, G. C., Noakes, D. E., Dobson, H., & Sheldon, I. M. 2005 - Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, 63(1), 102-117.
- 234. Wiltbank M, Gumen A, Sartori R. 2002 - Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenol.* 57: 21 – 52.
- 235. Windig JJ, Calus MP, Veerkamp RF. 2005 - Influence of herd environment on health and fertility and their relationship with milk production. *J Dairy Sci*;88: 335–47.
- 236. Wright I, Rhind S, Russel A, Whyte T, McBean A, McMillen S. 1987 - Effects of body condition, food intake and temporary calf separation on the duration of the post-partum anoestrous period and associated LH, FSH and prolactin concentrations in beef cows. *Anim Prod*;45: 395–402.
- 237. www.oxoid.com
- 238. Yilmazbas-Mecitoglu G, Karakaya E, Keskin A, Alkan A, Okut H, Gümen A. 2012 - Effects of presynchronization with gonadotropin-releasing hormone-prostaglandin F2 α or progesterone before Ovsynch in noncyclic dairy cows. *J Dairy Sci*;95: 7186–7194.
- 239. Youngquist RS and Threlfall, R. 2007 - Current Therapy in Large Animal, *Theriogenology*, 45: 346-349.
- 240. Zerbe H., Schneider N., Leibold W., Wensing T., Kruip TA., Schuberth HJ. 2000 - Altered functional and immunophenotypical properties of neutrophilic granulocytes in postpartum cows associated with fatty liver. *Theriogenology*; 54: 771-786.

ANEXA 1. LISTA ABREVIERILOR

% - procent

€ - moneda euro

BCS – scor de condiție corporală

CI - calving intervalul

CLP/ BCO/ HO – corp luteal persistent/ boala chistică ovariană/ hipotrofie ovariană

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute

cm - centimetru

CTX-M - Munich-cefotaximază

E – endometrită

E1 – E5 - Lotul experimental 1 – Lotul experimental 5

E60 – apariția semnelor estrale în decursul celor 60 zile postpartum

ESBL - enzime betalactamază cu spectru extins

FSH – hormon de stimulare foliculară

FV – febră vituleră

G% – indice de gestație

GH - hormon de creștere

GnRH – hormon de eliberare al gonadotropinelor

IDE - Mediul Oficial de Dezvoltare

IGF-1 - factorul de creștere insulin-like

L1 – L6 – Lotul experimental 1 – Lotul experimental 6

LH – hormon luteinizant

M – metrită

MHz – megahertz

MIU - Mobilitate Indol Uree

ml – mililitru

mm – milimetru

NEFA - acizi grași neesterificați

ng – nanogram

Nr. - număr

Nr. IA/G - numărul mediu de inseminări pentru obținerea unei gestații

Nr.Trat. – număr de tratamente realizate pentru tratarea afecțiunilor din sfera genitală

OXA – oxacilinază

P - 1IA - parturiție - prima inseminare artificială

PCR - Protein Chain Reaction

PGE – Prostaglandina E

PGF2α - prostaglandina F2 alfa

PMN - neutrofile polimorfonucleare
PR - perioada de reproducere
Rc% - rata de concepție
REF – reformă
RP – retenție placentară
SDK - Software Development Kit
SHV - betalactamază - sulfhidril variabilă
SP - service periodul
TEM - Temoneira
TFD – tip de fătare distocic
TSI Triple Sugar Iron
V – volt

ANNEX 1. ABBREVIATION LIST

% - percent
€ - euro
BCS – body condition score
CI - calving interval
CLP/ BCO/ HO – persistent corpus luteum/cystic ovarian disease/ovarian inactivity
CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute
cm - centimeter
CTX-M - Munich-Cefotaxime
E – endometritis
E1 – E5 – experimental group 1 – experimental group 5
E60 – estrus signs occurring during first 60 days postpartum
ESBL – extended spectrum beta-lactamases
FSH – Follicle-stimulating hormone
FV – milk fever
G% – pregnancy index
GH – growth hormone
GnRH – Gonadotropin-releasing hormone
IDE - Official Development Environment
IGF-1 – insulin-like growth factor
L1 – L6 – experimental group 1 – experimental group 6
LH - luteinizing hormone
M – metritis
MHz – megahertz
MIU – mobility indole uree
ml – milliliter
mm –millimeter
NEFA - non-esterified fatty acids
ng – nanogram
Nr. - number
Nr. IA/G – the mean number of inseminations to obtain a pregnancy
Nr.Trat. – Number of treatments to treat genital disorders
OXA – oxacillinase
P - 1IA – parturition – first artificial insemination
PCR - Protein Chain Reaction
PGE – Prostaglandina E
PGF2 α - prostaglandin F2 alfa

PMN - polymorphonuclear neutrophils
PR – reproduction period
Rc% - conception rate
REF – culling
RP – placental retention
SDK - Software Development Kit
SHV - betalactamase - sulfhydryl variable
SP - service period
TEM - Temoneira
TFD – dystocia
TSI - Triple Sugar Iron
V – volt

ANEXA 2. LISTA TABELELOR

Tabelul 2.1 Factori de risc pentru apariția afecțiunilor uterine bacteriene, la vacile de lapte (Sheldon ș.a., 2004)	35
Tabelul 2.2 Stabilirea scorului endometritelor (Sheldon ș.a., 2004)	40
Tabelul 4.1. Prevalența afecțiunilor ovariene raportate la numărul total de animale luate în studiu (2010 - 2013)	61
Tabelul 4.2. Prevalența ovarioapatiilor în funcție de sezonul de parturiție în perioada 2010 - 2013 la vacile de lapte	62
Tabel 4.3. Prevalența afecțiunilor ovariene studiate în funcție de numărul lactației în perioada 2010 - 2013 la vacile de lapte.....	63
Tabel 4.4. Media indicilor reproductivi la vacile diagnosticate cu persistența corpului luteal și tratate cu produse hormonale, în perioada 2010 – 2013	65
Tabel 4.5. Parametrii reproductivi la vacile care și-au reluat ciclicitatea ovariană în decursul primelor 60 de zile postpartum, în perioada 2010 – 2013	66
Tabel 4.6. Parametrii reproductivi la vacile diagnosticate cu boala chistică ovariană și tratate cu produse hormonale, în perioada 2010 – 2013	67
Tabel 4.7. Parametrii reproductivi la vacile diagnosticate cu hipotrofie ovariană și tratate cu produse hormonale, în perioada 2010 – 2013	67
Tabel 5.1. Clasele de antibiotice utilizate la realizarea antibiogramelor	73
Tabel 5.2. Condiții de amplificare (prin PCR) pentru genele studiate (gene care codifică enzimele ESBL)	74
Tabel 5.3. Temperatura de aliniere și designul primerilor utilizate la PCR (în scopul detecției genelor care codifică enzimele ESBL)	75
Tabel 6.1. Frecvența parametrilor studiați raportați la numărul total de vaci luate în studiu, în perioada 2015 – 2016	89
Tabel 6.2. Corelarea afecțiunilor postpartum și ai indicilor de reproducere, la vacile cu ovarioapatii	93
Tabel 7.1. Răspunsul la tratamentul administrat vacilor din loturile L2 - L6	110
Tabel 7.2. Evaluarea apariției semnelor estrale și ai indicilor reproductivi, la vacile din loturile luate în studiu	110
Tabel 8.1. Valorile medii ale indicilor reproductivi, atât la vacile diagnosticate gestante în primele 80 zile postpartum (E1), cât și la cele infecunde (E2, E3, E4, E5)	116

Tabel 8.2. Numărul total de zile de infecunditate/sterilitate în cadrul fermei pe perioada unui an calendaristic.....	117
--	-----

ANNEX 2. LIST OF TABLES

Table 2.1 Risk factors for bacterial uterine disorders in dairy cattle (Sheldon et al., 2004)	35
Table 2.2 Endometritis score establishment (Sheldon et al., 2004)	40
Table 4.1. Prevalence of ovarian disorders related to the total number of animals taken under study (2010 – 2013)	61
Table 4.2. The prevalence of ovarian disorders according to calving season during 2010 - 2013 in dairy cattle.....	62
Table 4.3. The prevalence of studied ovarian disorders according to lactation number during 2010 - 2013 in dairy cattle	63
Table 4.4. Reproductive indices mean in cattle with persistent corpus luteum, treated with hormonal products during 2010 – 2013.....	65
Table 4.5. Reproductive parameters in cattle which resumed their ovarian cyclicity within 60 days postpartum, during 2010 – 2013	66
Table 4.6. Reproductive parameters in cattle with cystic ovarian disease, treated with hormonal products during 2010 – 2013.....	67
Table 4.7. Reproductive parameters in cattle with ovarian inactivity, treated with hormonal products during 2010 - 2013.....	67
Table 5.1. Antibiotics classes used for antibiotics sensitivity testing	73
Table 5.2. Amplification conditions (by PCR) for studied genes (ESBL encoding genes).....	74
Table 5.3. Alignment temperatures and primers design used for PCR (detection of encoding genes ESBL enzymes)	75
Table 6.1. Frequency of studied parameters reported to the total number of cows taken under study, during 2015 - 2016.....	89
Table 6.2. Correlations of postpartum diseases and reproductive indices, in cows with ovarian disorders	93
Table 7.1. Treatment response in cows within L2 - L6 groups.....	110
Table 7.2. Estrus signs and reproductive indices evaluation within cows taken under study	110
Table 8.1. Mean values of reproductive indices, both in pregnant in the first 80 days postpartum (E1) and infecund cows (E2, E3, E4, E5)	116
Table 8.2. Total days number of infecundity/sterility within farm during a calendaristic year.....	117

ANEXA 3. LISTA FIGURILOR

Fig. 1.1 Modificările carunculare la vacă, în perioada puerperiumului timpuriu (Gier și Marion, 1968)	29
Fig. 1.2 Reprezentare schematică a valurilor foliculare la vacile de lapte și de carne (Crowe ș.a., 2013)	31
Fig. 4.1. Prevalența afecțiunilor ovariene înregistrate în perioada 2010 – 2013 la vacile de lapte	61
Fig. 5.1. <i>Escherichia coli</i> - aspecte culturale pe mediul Levine (foto original)	70
Fig. 5.2. <i>Streptococcus spp.</i> - aspecte culturale pe mediul Chapmann (foto original)	71
Fig. 5.3. Bacterii Gram pozitive - aspecte culturale pe mediu agar cu sânge (foto original)	71
Fig. 5.4. Examenе biochimice - Mobilitate Indol Uree (MIU) și Triple Sugar Iron (TSI) (foto original)	72
Fig. 5.5. Prevalența afecțiunilor din sfera genitală raportată la numărul total de vaci examinate	76
Fig. 5.6 Aspecte culturale pe mediul Simmons (<i>Klebsiella pneumoniae</i>), prin utilizarea carbon citratului ca sursă de creștere (foto original)	78
Fig. 5.7 Tipurile de tulpini bacteriene izolate de la vacile cu endometrite	79
Fig. 5.8 Rezultatele antibiogramelor realizate pentru tulpinile Gram negative	80
Fig. 5.9. Rezultatele antibiogramelor realizate pentru tulpinile Gram pozitive	81
Fig. 6.1. Distribuția numărului de fătări (NF) raportată la numărul total de animale luate în studiu	86
Fig. 6.2. Distribuția duratei de gestație (DG) raportată la numărul total de animale luate în studiu	87
Fig. 6.3. Reluarea activității ovariene la vacile luate în studiu în perioada 2015 - 2016	90
Fig. 7.1 Frecvența patologiilor genitale înregistrate în ferma, în perioada luată în studiu	104
Fig. 7.2 Aspectul ecografic al lumenului uterin la o vacă cu endometrită (foto original)	105
Fig. 7.3 Aspectul ecografic al corpului luteal persistent la vacă (foto original)	106
Fig. 7.4 Aspect ecografic al chistului luteinic la vacă (foto original)	107

Fig. 7.5 Aspect ecografic al hipotrofiei ovariene la vacă (foto original)	108
Fig. 8.1 Ecranul de "Bun Venit" (foto original)	124
Fig. 8.3 Meniul de navigare al aplicației (foto original).....	124
Fig. 8.2 Meniul principal al aplicației (foto original)	124
Fig. 8.4 Secțiunea introductivă ce prezintă Modulele Principale ale Aplicației (foto original).....	125
Fig. 8.6 Scanarea codului de bare (foto original)	126
Fig. 8.5 Selectarea operațiunii de scanare (foto original).....	126
Fig. 8.10 A doua examinare postpartum (foto original)	127
Fig. 8.9 Prima examinare postpartum (foto original)	127
Fig. 8.8 Informații Parturiție (foto original).....	127
Fig. 8.7 Informații Generale (foto original)	127
Fig. 8.13 Tratamente (foto original)	128
Fig. 8.12 Parametri Reproductivi (foto original)	128
Fig. 8.14 Scoruri de sănătate (foto original).....	128
Fig. 8.11 Informații Estrale (foto original).....	128
Fig. 8.15 Modalități de selectare/introducere a datelor din sub-meniurile aplicației "Cattle365"	129
Fig. 8.17 Detaliile disponibile din lista de animale (foto original)	131
Fig. 8.16 Lista de animale (foto original)	131
Fig. 8.18 Modulul de notificări (Push Notification) (foto original)	132
Fig. 8.19 Modulul de Statistici (foto original).....	133

ANNEX 3. LIST OF FIGURES

Fig. 1.1 Caruncular changes in cows during early puerperium (Gier and Marion, 1968)	29
Fig. 1.2 Schematic representation of follicular waves in dairy and beef cows (Crowe et al., 2013).....	31
Fig. 4.1. The prevalence of ovarian disorders during 2010 – 2013 in dairy cattle	61
Fig. 5.1. <i>Escherichia coli</i> - cultural aspects on Levine Medium (original photo)	70
Fig. 5.2. <i>Streptococcus spp.</i> - cultural aspects on Champann Medium (original photo)	71
Fig. 5.3. Gram positive bacteria - cultural aspects on blood agar medium (original photo)	71
Fig. 5.4. Biochemical exams - Mobility Indole Urea (MIU) and Triple Sugar Iron (TSI) (original photo).....	72
Fig. 5.5. Prevalence of genital disorders related to the total number of examined cattle	76
Fig. 5.6 Cultural aspects on Simmons Medium (<i>Klebsiella pneumoniae</i>), by using carbon citrate as a growth source (original photo).....	78
Fig. 5.7 Bacterial strains types isolated from cows with endometritis.....	79
Fig. 5.8 Antibiotic susceptibility results for Gram negative strains	80
Fig. 5.9. Antibiotic susceptibility results for Gram negative strains	81
Fig. 6.1. Calving distribution number reported to the total number of animals taken under study	86
Fig. 6.2. Pregnancy length (DG) distribution reported to the total number of animals taken under study	87
Fig. 6.3. Resumption of ovarian activity in cows taken under study during 2015 - 2016	90
Fig. 7.1 Genital disorders frequency recorded within farm, during the study period	104
Fig. 7.2 Ultrasound aspect of a uterine lumen from a cow with endometritis (original photo)	105
Fig. 7.3 Ultrasound aspect of a persistent corpus luteum in cows (original photo)....	106
Fig. 7.4 Ultrasound aspect of a luteal cyst in cows (original photo)	107
Fig. 7.5 Ultrasound aspect of ovarian inactivity in cows (original photo)	108

Fig. 8.1 "Welcome" Screen (original photo)	124
Fig. 8.3 Application Navigation Menu (original photo)	124
Fig. 8.2 Application Main Menu (original photo).....	124
Fig. 8.4 Intro Section with Application Main Modules (original photo)	125
Fig. 8.6 Barcode Scanner (original photo)	126
Fig. 8.5 Select Scanning Operation (original photo)	126
Fig. 8.10 Second Postpartum Examination (original photo)	127
Fig. 8.9 First Postpartum Examination (original photo)	127
Fig. 8.8 Parturition Information (original photo)	127
Fig. 8.7 General Information (original photo)	127
Fig. 8.13 Treatments (original photo)	128
Fig. 8.12 Reproductive Parameters.....	128
(original photo).....	128
Fig. 8.14 Health Scores (original photo)	128
Fig. 8.11 Estrus Information (original photo).....	128
Fig 8.15 Data input types within "Cattle365" Application Sub-Menu	129
Fig. 8.17 Available Details from Animals List (original photo)	131
Fig. 8.16 Animals List (original photo)	131
Fig. 8.18 Notification Module (Push Notification) (original photo)	132
Fig. 8.19 Statistics Module (original photo).....	133

ANEXA 4. LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

ANNEX 4. PUBLISHED SCIENTIFIC PAPERS

În calitate de prim-autor:

1. **Ioana Cristina CRIVEI**, Elena Ruginosu, D. Drugociu, P. Roșca, S. I. Borș, D. L. Dascălu, 2015 - Study Concerning the Prevalence of Ovarian . Diseases in Dairy Cows from a Farm in North-Eastern Moldavia. Bulletin UASVM Veterinary Medicine 72(1).
2. **Ioana Cristina CRIVEI**, Andreea Paula COZMA, Oana Alexandra CIOCAN, Ionut BORS, Petru ROSCA, Dan DRUGOCIU, 2016 - Preliminary Remarks in Hormonal Treatments Effects on Reproduction Period in Cows. Bulletin UASVM Veterinary Medicine 73(1).
3. **Ioana Cristina CRIVEI**, Andreea Paula Cozma, S. I. Bors, Elena Ruginosu, P. Roșca, 2016 - Antibiotics Sensitivity of Isolated Bacteria from Dairy Cows with Clinical Endometritis. Lucrări Științifice Medicină Veterinară Vol. XLIX (3), Timișoara.
4. **Ioana Cristina CRIVEI**, Andreea Paula COZMA, Oana Alexandra CIOCAN, Ionut BORS, Petru ROSCA, Dan DRUGOCIU, 2017 - Preliminary Remarks Regarding the Prevalence of ESBL - Producing Strains of E. coli and K. Pneumoniae, Isolated from Cows with Clinical Endometritis. Bulletin UASVM Veterinary Medicine 74(1).
5. **Ioana Cristina CRIVEI**, Petru ROȘCA, Dan DRUGOCIU, 2017 - Correlations between Several Postpartum Diseases and their Influence on Reproductive Performance in Dairy Cattle. Lucrări Științifice Medicină Veterinară, Timișoara – în curs de publicare.

În calitate de co-autor:

1. Oana Alexandra CIOCAN, Alper CIFTCI, Mihai CARP-CARARE, Mihai MARES, Eleonora GUGUIANU, **Ioana Cristina CRIVEI**, Carmen Valentina PANZARU, Catalin CARP-CARARE, 2016 - The Prevalence of Pseudomonas Aeruginosa Strains in Infants with Cystic Fibrosis within a Hospital in North Easter of Romania. Bulletin UASVM Veterinary Medicine 73(2).
2. Ioana SFARTZ, Dan DRUGOCIU, Petru ROȘCA, Iulian IBĂNESCU, **Ioana Cristina CRIVEI**, 2015 - Dysgerminoma, Pyometra of the Stump and Mammary Carcinoma in a Female Dog with Ovarian Remnant Syndrome-Case Study. Bulletin UASVM Veterinary Medicine 72(2).

3. Andreea Paula COZMA, **Ioana Cristina CRIVEI**, Oana Alexandra CIOCAN, Catalin CARP-CARARE, Cristina RIMBU, Eleonora GUGUIANU, Cristina HORHOGEA, Mihai CARP-CARARE, 2017 - The Prevalence of Esbl-Producing Strains of E.Coli, Isolated from Calves with Colibacillosis – Preliminary Remarks. Bulletin UASVM Veterinary Medicine 74(1).
4. Iulian Andrei IBANESCU, Petru ROȘCA, **Ioana Cristina CRIVEI**, Ioana SFARTZ, Dan DRUGOCIU, 2015 - Correlations between Some Parameters of Raw and Stored Semen in Boar. Bulletin UASVM Veterinary Medicine 72(2).
5. Oana Alexandra CIOCAN (MOȚCO), A. ÇIFTÇI, Y. KOÇAK, M. CARP-CĂRARE, M. MAREȘ, A.P. COZMA, **Ioana Cristina CRIVEI**, E. GUGUIANU, C. RÎMBU, C.V. PANZARU, C. CARP-CĂRARE, 2016 - Phenotypes Of Fluoroquinolone Resistance In Pseudomonas Aeruginosa Isolates From A Romanian Hospital. Scientific Works. Series C. Veterinary Medicine, Vol. LXII, Issue 1, ISSN 2065-1295, 85-87.
6. Ioana SFARTZ, Dan DRUGOCIU, Petru ROȘCA, **Ioana Cristina CRIVEI**, 2015 - Rupture of pregnant uterus in a golden head lion tamarin female-Case study. Lucr.șt. Med. Vet., 58(17) partea II, ISSN: 1454-7406, 391-395.