

REZUMAT

Teza de doctorat are un volum de 251 pagini, prezintă 253 titluri bibliografice și este structurată în două părți: " Stadiul cunoașterii " 96 pagini și " Contribuții proprii " care se extind pe 156 pagini.

Lucrarea este ilustrată cu 28 tabele și 129 figuri, în majoritate color.

Prima parte " Stadiul cunoașterii " cuprinde următoarele 5 capitole: 1. Morfofiziologia aparatului genital la vacă; 2. Infertilitatea nutrițională la vacă; 3. Infertilitatea funcțională; 4. Infertilitatea lezională; 5. Infertilitatea datorată unor deficiențe imunitare.

1. Morfofiziologia aparatului genital la vacă

În acest capitol se redă sintetic pe baza datelor din literatura de specialitate, stadiul cunoștințelor actuale privind: structura morfologică a componentelor aparatului genital- căile genitale și ovarele; fiziologia aparatului genital, cu referire la ovogeneză, foliculogeneză, reglarea ciclului sexual; caracteristicile ciclului sexual la vacă.

2. Infertilitatea nutrițională la vacă

Sunt prezentate în mod analitic și sintetic, cele mai recente cunoștințe din literatura de specialitate referitoare la etiologia nutrițională a infertilității la vacă, cu referire la mecanismele etiopatogene ale supraalimentației, subalimentației, deficiențelor în diferiți principii nutritivi, proteici, glucidici, lipidici și vitamino-minerali implicate în infertilitatea nutrițională la vacă.

3. Infertilitatea funcțională la vacă

În acest capitol sunt sintetizate cele mai recente cercetări privind mecanismele hormonale implicate în etiopatogeneza infertilității funcționale la vacă, formele de manifestare, simptomatologia, diagnosticul și tratamentul preventiv și curativ al acestora. Sunt analizate diferite forme ale anestrului patologic determinat de corp luteal persistent, hipotrofie ovariană, chiști ovarieni luteinici și chiștii corpului luteal.

4. Infertilitatea lezională la vacă

Se fac referiri la metropatiile puerperale, ca punct de plecare a metropatiilor cronice la vacile de lapte, prezentându-se cele mai importante forme de manifestare, retenția anexelor fetale, endometrita catarală puerperală, metrita necrotică și metrita gangrenoasă, din punct de vedere al etiopatogenezei, simptomatologiei, diagnosticului și tratamentului preventiv și curativ.

De asemenea sunt prezentate metropatiile cronice la vacă cu formele ei de manifestare, endometrita catarală cronică latentă, endometrita cronică purulentă, piometrul, perimetrita, parametrita, fiind vizate cercetările recente privind etiopatogeneza, diagnosticul și tratamentul preventiv și curativ al acestora.

5. Infertilitatea datorată unor deficiențe imunitare

Sunt prezentate corelațiile între cele trei sisteme nervos, endocrin, imun care se influențează reciproc prin intermediul unor factori moleculari care le mediază. De asemenea se fac referiri la factorii endogeni și exogeni, care determină variații ale capacității imunologice a organismelor, în mod special este vizată patologia lezională a uterului, care datorită formării unor reacții anticorpi-antigeni în timpul însămânțării femelei va atrage sterilitatea femelei.

Partea a- II- a “Contribuții proprii” cuprinde 3 capitole: 6. Cadrul natural/organizatoric și instituțional în care s-au desfășurat cercetările; 7. Materialul și metodele de cercetare; 8. Rezultate și interpretare.

6. Cadrul natural/ organizatoric și instituțional în care s-au desfășurat cercetările

În acest capitol sunt prezentate date privind perioada și locul de desfășurare a cercetărilor, cu referire la efectivul de animale luat în studiu, sistemul de întreținere și furajare a acestora.

7. Materialul și metodele de cercetare

Cercetările au fost efectuate într-o unitate de creștere și exploatare a vacilor pentru lapte, materialul fiind reprezentat de vaci de vârstă diferită, din rasa Bălțată cu Negru Românească.

Investigațiile s-au realizat pe loturi experimentale constituite din vaci cu endometrită purulentă cronică și vaci cu endometrită catarală cronică latentă, rezultatele fiind comparate cu cele înregistrate la lotul martor, constituit din vaci sănătoase.

Au fost prelevate probe de sânge pentru efectuarea unor analize hematologice, biochimice și imunologice, probe de secreții genitale pentru determinări bacteriologice, precum și probe de țesuturi de endometru și ovare pentru examene de histopatologie. S-au efectuat examene de ecografie pelvină pentru investigația endometrului și ovarelor.

S-a analizat desfășurarea proceselor de reproducție la vacile cu metropatii, s-a stabilit prevalența metropatiilor în cadrul morbidității generale și celei genitale, s-au efectuat diverse investigații asupra etiopatogeniei metritelor cronice prin anchete epidemiologice, analize clinice și paraclinice. De asemenea s-au analizat implicațiile zooeconomice ale metropatiilor cronice.

S-au aplicat tratamente de prevenire și combatere a metropatiilor în diferite variante experimentale, stabilindu-se efectul acestora asupra parametrilor de fecunditate.

Rezultatele obținute au fost prelucrate statistic prin testul Student pentru stabilirea semnificațiilor statistice.

8. Rezultate și interpretare

8.1. Cercetări clinice în metropatiile cronice la vacile pentru lapte

Cercetările clinice au evidențiat diverse forme de manifestare a metropatiilor cronice la vacile pentru lapte, dintre care mai frecvente au fost endometrita purulentă cronică și endometrita catarală cronică latentă. Semnele generale la vacile luate în studiu au fost nedecelabile sau slab exprimate, iar semnele locale au fost evidente doar la vacile cu endometrită purulentă cronică, manifestate prin secreții genitale purulente sau mucopurulente, intermitente și doar în timpul estrului, cu modificări ale mucusului de călduri, manifestate prin ușoară opalescență, flocoane albe sau strii purulente la vacile cu endometrită catarală cronică latentă.

8.2. Cercetări paraclinice în metropatiile cronice la vacile pentru lapte

8.2.1. Cercetări de profil metabolic

Studiile de profil metabolic au evidențiat oscilații ale constantelor hematologice și biochimice la loturile experimentale, comparativ cu lotul martor, determinate de procesul inflamator de la nivelul uterului, modificări care au fost cu atât mai severe cu cât intensitatea și extinderea procesului inflamator a fost mai mare.

Valorile seriei eritrocitare la vacile din loturile experimentale s-au situat în limitele de variație considerate fiziologice, cu oscilații între nivelul inferior al valorilor (numărul de eritrocite și hematocritul), nivelul mediei (hemoglobina, CHEM-ul) și nivelul superior al valorilor de referință (VEM-ul și HEM-ul), comparativ cu lotul martor.

Numărul total de leucocite s-a situat în limitele fiziologice, la vacile din loturile experimentale fiind crescute semnificativ ($p < 0,05$) spre nivelul superior al valorilor de referință, față de lotul martor.

Formula leucocitară a prezentat diferite valori ale fracțiunilor leucocitare la loturile experimentale față de lotul martor, în sensul scăderii nesemnificative a valorilor limfocitelor, monocitelor și a creșterii neutrofilelor, eozinofilelor și bazofilelor.

Investigațiile privind profilul biochimic la vacile cu metropatii cronice au indicat diferite modificări privind principalii indici biochimici serici.

Proteinele totale au înregistrat la vacile din loturile experimentale valori medii mai scăzute, statistic semnificativ ($p \leq 0,05$), situate spre limita inferioară a valorilor normale, față de lotul martor. *Fracțiunile proteice* la vacile cu metropatii cronice au înregistrat variații în sensul scăderii albuminei serice și creșterii globulinelor serice, cu diferențe semnificative statistic ($p \leq 0,05$), față de vacile sănătoase

Ureea serică a înregistrat la loturile experimentale valori situate la limita superioară fiziologică, comparativ cu lotul martor, cu diferențe distinct semnificative ($p \leq 0,01$).

Glicemia serică a înregistrat valori medii situate în limite fiziologice la loturile studiate, fără diferențe semnificative.

Colesterolul seric a prezentat valori de nivele ridicate, care au depășit limita superioară fiziologică la vacile cu metropatii cronice purulente, comparativ cu lotul martor.

Corpii cetonici serici au avut valori în limite fiziologice.

Rezerva alcalină a prezentat la vacile din loturile experimentale valori sub limita inferioară a datelor de referință, cu diferențe statistic semnificative ($p \leq 0,05$) față de lotul martor, fiind indicată o acidoză rumenală.

Profilul enzimatic (TGP, TGO, GGT și FA) a înregistrat diferite oscilații între loturile experimentale și martor. Modificări relevante au fost la vacile cu metropatii cronice în ceea ce privesc enzimele TGP–transaminaza glutamo-piruvică, care a avut valori medii crescute, statistic semnificative peste limita superioară a valorilor fiziologice, față de lotul martor.

Celelalte enzime studiate au avut creșteri nesemnificative la vacile din loturile experimentale față de vacile din lotul martor, situate spre limita inferioară a speciei.

Modificările FA–fosfataza alcalină au indicat deficiențe ale metabolismului fosfo-calcic, în special în ceea ce privește raportul fosfo-calcic.

Profilul mineral s-a urmărit la loturile de vaci luate în studiu prin determinarea nivelurilor serice ale calciului, fosforului și magneziului. Calcemia și magneziemia au înregistrat valori medii în limite fiziologice la toate loturile luate în studiu, diferențele între loturi fiind nesemnificative statistic, iar fosforemia a înregistrat la loturile experimentale valori mai mici comparativ cu lotul martor, diferențele între loturi fiind nesemnificative statistic. Raportul fosfo/calcic la toate loturile de vaci luate în studiu a fost la nivelul inferior celui indicat de literatura de specialitate.

8.2.2. Cercetări de profil imunologic

Analiza componentei celulare a profilului imun a indicat la vacile din loturile experimentale creșteri semnificative ale numărului de leucocite, cu preponderență neutrofilică, iar analiza componentei umorale, referitoare la fracțiunile globulinice serice a indicat creșteri semnificative ale globulinelor γ , cu diferențe statistic semnificativ ($p < 0,05$) față de lotul martor.

În ceea ce privește indicele opsonocitofagic s-au constatat creșteri nesemnificative ale valorilor medii la vacile din loturile experimentale, comparativ cu vacile din lotul martor, relevând o activitate fagocitară mai intensă la vacile cu infecții genitale, determinată de prezența bacteriilor patogene de la nivelul uterului.

Complementul seric a indicat scăderi ale valorilor medii la vacile din loturile experimentale, comparativ cu vacile din lotul martor, acestea oscilând între 25- 35 % la vacile din loturile E_1 și respectiv E_2 și de 92,2 % în lotul M, diferențele fiind foarte semnificative statistic ($p < 0,001$).

8.2.3. Cercetări asupra modificărilor histologice

Studiile de histopatologie la vacile cu metropatii cronice au evidențiat modificări structurale atât la nivelul endometrului, cât și la nivelul ovarelor.

Principalele leziuni histologice uterine constatate au fost la nivelul laminei proprii a endometrului, unde printre glandele uterine s-au decelat numeroase fibre conjunctive, infiltrație histiocitară și epiteliul mucoasei denudat.

La nivelul ovarelor modificările au fost asociate leziunilor uterine, fiind diferite în funcție de tipul afecțiunii ovariene. La nivelul corpului luteal persistent asociat endometritei purulente cronice s-a evidențiat în celulele luteale o accentuată degenerescență vacuolară, necrobioză și compensator hiperplazie fibroblastică. La nivelul chistului corpului luteal s-a constatat o cavitate plină cu lichid citrin, delimitată de o corticală groasă, uniformă și integral luteinizată. La ovarele cu hipotrofie modificările au fost pregnante, fiind afectat epiteliul germinativ pe zone întinse, care apare aplatizat, în zona subiacentă sunt numeroase celule mezenchimale, fibroblaste, fibrocite, histiocite, mastocite, în zona corticală, țesutul conjunctiv abundent dispus în vârtejuri, iar foliculii ovarieni în fazele primare de dezvoltare (foliculi atrezici).

8.2.4. Cercetări microbiologice

Analiza florei bacteriene, izolată din secrețiile genitale provenite de la vacile cu metropatii cronice a evidențiat aspecte diferite în funcție de forma de manifestare, clinică sau latentă.

La vacile studiate s-a constatat o floră polibacteriană, care a fost izolată în cultură pură sau în cultură mixtă.

De la vacile cu endometrită purulente cronice s-au izolat în cultură pură bacterii din specia *Staphylococcus aureus* în majoritatea cazurilor analizate, iar de la vacile cu endometrită catarală cronică latentă bacterii din speciile: *Staphylococcus aureus*, *Arcanobacterium pyogenes* și *Bacillus cereus*.

În cultură mixtă s-au izolat bacterii din speciile *Escherichia coli* și *Arcanobacterium pyogenes* și respectiv *Staphylococcus aureus*, *Arcanobacterium pyogenes* la vacile cu endometrită purulentă cronică și din speciile *Arcanobacterium pyogenes* și *Staphylococcus aureus* la vacile cu metropatii cronice latente.

De la vacile din lotul martor s-au izolat în cultură pură bacterii condiționat patogene din speciile *Bacillus cereus* (20 %), o floră nepatogenă din specia *Lactobacillus spp.*, (20 %), iar în 60 % din cazuri probele au fost sterile.

Antibiograma a indicat o sensibilitate moderată a bacteriilor izolate la Ampicilină și Cefoperazonă și o sensibilitate crescută la Cloramfenicol, Ceftiofur, Kanamicină, Enrofloxacină, Lincospectină, Amoxiciclină și Florfenicol.

8.2.5. Aspecte ecografice în metopatiile cronice

Examenul ecografic la vacile cu *metrită purulentă cronică cu colecție redusă* a evidențiat uterul mărit în volum, peretele uterin hipoeogen, mult îngroșat, conținut uterin redus, anecogen sau anecogen "cu spoturi în suspensie", ovare netede, cu un contur regulat, ecogenitate ușor crescută, datorată creșterii proporției de țesut conjunctiv în masa acestuia.

Examenul ecografic la vacile cu *metrită purulentă cronică cu colecție masivă (piometru)* a evidențiat uterul mărit în volum, peretele îngroșat neregulat, hipoeogen, colecții intrauterine masive, formate din lichide (anecogene) cu foarte multă celularitate– particule în suspensie, aspect ecografic difuz cu reflexii floculare dispersate ("spoturi în suspensie"). La nivel cervical s-au identificat lichide anecogene, ceea ce a indicat faptul că cervixul este întredeschis, iar pe ovare, la toate cazurile examinate, au fost identificați corpi luteali persistenți, dintre care o mare parte au fost corpi luteali cavitari.

8.3. Cercetări asupra desfășurării proceselor de reproducție la vacile cu metropatii cronice

Au fost evidențiate diferențe în ceea ce privește modul de manifestare a ciclului estral și lungimea ciclurilor estrale la vacile cu metropatii cronice, comparativ cu vacile sănătoase.

Manifestarea estrului la vacile cu endometrita purulentă cronică a avut loc după perioade prelungite de anestrus postpartum sau în mod repetat, la diferite intervale la vacile cu endometrită catarală cronică latentă. Vacile cu metropatii au prezentat variații privind tipul ciclurilor sexuale: 34,4 % cicluri sexuale regulate, 11,72 % cicluri sexuale neregulate și 53,9% cicluri alternative, iar ca lungime au fost în 27,3 % cicluri normale și 72,65 % cicluri lungi.

8.4. Cercetări privind incidența metropatiilor cronice și influența asupra parametrilor de reproducție la vacile de lapte

8.4.1. Incidența metropatiilor cronice

Valoarea medie a incidenței metropatiilor cronice la vaci a fost de 26,70 % din totalul afecțiunilor genitale și de 11,11 % din totalul efectivului de vaci, cu variații anuale cuprinse între 8,01 % (2007) și 13,48 % (2006). Incidența metropatiilor cronice în funcție de sezon a înregistrat un nivel maxim (4,0 %) în sezonul de primăvară și un nivel minim (1,46 %) în sezonul de toamnă.

8.4.2. Influența metropatiilor cronice asupra parametrilor de reproducție

Studiile privind principalii indicii de reproducție (intervalul fătare-prima înșămânțare, service-period-ul și numărul de I.A. pe gestație) la vacile cu metropatii cronice au avut valori medii mai mari, cu diferențe semnificative statistic comparativ cu vacile sănătoase.

- intervalul mediu fătare -prima înșămânțare artificială la vacile cu metropatii cronice purulente a fost mai mare cu 96 zile, ($181,3 \pm 13,42$ zile), comparativ cu lotul martor ($85,3 \pm 2,1$ zile), ($p \leq 0,001$),
- intervalul mediu fătare- înșămânțare fecundă la lotul experimental E a fost mai mare cu 88,2 zile ($219,4 \pm 14,89$ zile), comparativ cu lotul martor ($130,2 \pm 9,8$ zile), ($p \leq 0,001$),
- indicele de înșămânțare a prezentat valori medii la lotul experimental de $5,0 \pm 0,310$, iar la lotul martor de $2,3 \pm 0,132$, ($p \leq 0,001$).

8.4.3. Implicațiile zooeconomice ale metropatiilor cronice

Referitor la cauzele care conduc la scoaterea vacilor din efectiv prin sacrificare s-a constatat că afecțiunile genitale ocupă locul 4 cu o pondere de 16,10 % , fiind precedate de afecțiunile membrelor (30 %), afecțiunile mamare (22,40 %), afecțiunile medicale (28,8 %) și alte afecțiuni (2,70 %). Din totalul afecțiunilor genitale, metropatiile cronice au reprezentat o medie de 56,6 %, din care piometru 11,6 %, metrita cronică 79,0 %, iar perimetrita 9,3 %.

Studiile efectuate au evidențiat că, metropatiile cronice la vaci reprezintă afecțiuni care produc pierderi importante crescătorilor de vaci pentru lapte.

Pierderile economice datorate metropatiilor cronice la vaci au fost estimate la 211,50 lei (52,9 euro) /vacă /zi și 5634,78 lei (1408,69 euro) la un total de 89,2 zile de infecunditate/ vacă, din care:

1. cheltuieli neproductive- 53,6 lei- 13,4 euro, costul /vacă /zi și 4781,12 lei (1195,28 euro), costul/ vacă /total zile de infecunditate,
2. nerealizarea numărului de viței- 72,30 lei (18,10 euro), costul/ vacă /total zile de infecunditate,
3. nerealizarea producției de lapte- 7,80 lei (2,0 euro), costul /vacă /zi și 695,76 lei (173,94 euro, costul/ vacă /total zile de infecunditate,
4. pierderi prin eliminarea laptelui la animalele tratate cu antibiotice, care prezintă remanență - 21,60 lei (5,40 euro), costul /vacă /zi și 151,2 lei (37,8 euro), costul/vacă/total zile de tratament;
5. cheltuieli cu tratamentul vacilor cu metropatii cronice- 64,00 lei (16,00 euro), costul/vacă/zi și 192,0 lei (48,0 euro), costul/vacă/total zile de tratament.

La pierderile anterioare se adaugă și cele determinate de reformarea timpurie a vacilor cu metropatii cronice și nerealizarea integrală a unei lactații normale, ca diferență între costul valorificării la prăsilă și prețul valorificării la carne, care poate să ajungă până la 5889 lei (1444 Euro), vacile fiind sacrificate de necesitate înainte ca investiția/animal să fie amortizată.

8.5. Conduita preventivă și terapeutică în metropatiile cronice la vacile pentru lapte

Studiile privind conduita preventivă și terapia metropatiilor au indicat reducerea incidenței afecțiunilor inflamatorii și îmbunătățirea incizilor de reproducție la vacile pentru lapte.

- *tratamentele preventive* aplicate vacilor antepartum, în ultima lună de gestație, cu Sel-E-Vit (lotul A₁) au redus 100 % retențiile anexelor fetale și până la 6,7 % infecțiile genitale, iar tratamentele cu PGF_{2α} efectuate la 14 și 28 zile postpartum au redus incidența acestora până la 6,7 %, comparativ cu lotul martor, care a înregistrat 10,0 % retenții ale anexelor fetale și 16,7 % infecții uterine, nivele cu 10 % (A₁–M₁), ($p \leq 0,05$), mai ridicate față de lotul martor,

- intervalul mediu fătare–prima însămânțare la loturile experimentale a înregistrat variații între 70 zile (lotul A_1) și 81 zile (lotul A_2), valori mai scăzute cu 25 zile și respectiv 14 zile, comparativ cu lotul martor (95zile),
- rata fecundității la prima însămânțare artificială a prezentat la loturile experimentale oscilații între 40 % (lotul A_1) și 53,4 % (lotul A_2), nivele mai mari cu 13,3 %(A_1-M_1), ($p \leq 0,05$) și respectiv 26,7 %(A_2-M_1), ($p \leq 0,05$), comparativ cu lotul martor (26,7%),
- procentele de gestații la primele două însămânțări la loturile experimentale au variat între 73,4 (lotul A_1) și 86,7 (lotul A_2), fiind mai mari cu 16,7 (A_2-M_1), ($p \leq 0,05$), comparativ cu lotul martor,
- *tratamentele curative* efectuate la vacile cu metropatii cronice au avut rezultate variabile ale parametrilor de reproducție :
- la varianta B, intervalul tratament–însămânțarea fecundă a înregistrat o valoare medie de 68 zile, cu 27 zile mai scurt față de lotul martor M_2 (95 zile). Procentul de gestație pe total însămânțări de 86,7 la lotul experimental B, a fost cu 20,1 mai mare, comparativ cu lotul martor M_2 . Intervalul mediu fătare- însămânțarea fecundă a fost mai mic cu 41 zile la lotul experimental B (220 zile) față de lotul martor M_2 (261 zile).
- la varianta C, intervalul tratament – însămânțarea fecundă a înregistrat o valoare medie de 51 zile, cu 17 zile mai scurt față de lotul martor M_3 (68 zile). Procentul de gestație pe total însămânțări de 90,0 la lotul experimental C, a fost cu 16,7 mai mare, comparativ cu lotul martor M_3 , cu o valoarea de 73,3.