

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRONOMICE ȘI
MEDICINĂ VETERINARĂ DIN BUCUREȘTI**

2019

TEZĂ DE DOCTORAT

***OPTIMIZAREA METODOLOGIE DE DIAGNOSTIC ȘI
TRATAMENT ÎN INFECUNDITATEA DE ORIGINE
UTERINĂ ȘI VAGINALĂ LA VACĂ***

Conducător științific: **Prof. univ. Dr. Ion Alin BÎRȚOIU**
Prof. univ. Dr. Alexandru ȘONEA

Doctorand: Nicolae Tiberiu CONSTANTIN

Cuvinte cheie: vacă, indici reproductivi, vulvo-vestibulo-vaginite, cervicite, endometrite

REZUMAT

Lucrarea intitulată „*Optimizarea metodologie de diagnostic și tratament în infecunditatea de origine uterină și vaginală la vacă*” cuprinde un număr de 183 pagini, fiind structurată în două părți distincte.

Prima parte se întinde pe 46 de pagini și este reprezentată de **Stadiul actual al cunoașterii**, acesta fiind divizat în 3 capitole care descriu cele mai actuale date despre tema studiului, date care se întrepătrund cu alte informații consolidate din trecut.

Capitolul I (*Statusul imunologic al uterului bovin în perioada puerperală*) este alcătuit din 3 subcapitole și aduce în discuție noutăți despre imunitatea uterului bovin din perioada puerperală. Mai întâi este descrisă perioada critică prin care vacile trec în preajma parturii în strânsă corelație cu necesarul nutrițional al acestora. Totodată, contaminarea uterului puerperal

cu diferiți germeni este un lucru des întâlnit din cauza fenomenelor fiziologice care se petrec la acest moment. Relaxarea vulvei și deschiderea cervixului permit pasajul unei populații însemnate de germeni cu diferite grade de patogenitate precum *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Fusobacterium* spp..

O altă temă abordată în acest capitol a fost reprezentată de mijloacele prin care aparatul genital se apără în perioada postpartală de diferiți agenți patogeni. S-au descris pe rând, de la nivel macroscopic până la nivel microscopic barierele care limitează ascensiunea germenilor patogeni. Primele sunt reprezentate de componentele tractului copulator unde se descrie temporizarea închiderii colului uterin și activitatea vulvei.

La nivel microscopic, sunt descrise celulele polimorfonucleare care favorizează fagocitoza nonself-ului, imunoglobulinele care ajută neutralizarea directă a bacteriilor din lumenul uterin, iar la nivel molecular s-a descris conexiunea dintre moleculele asociate patogenilor și modelul de recunoaștere al acestora. Acesta din urmă este reprezentat în principal de receptorii Toll-like care sunt responsabili de recunoașterea diferitelor substanțe de pe suprafața antigenilor.

În capitolul al II-lea, intitulat *Infecunditatea de origine vulvo-vestibulo-vaginală*, sunt tratate afecțiunile de la nivelul conductului vulvo-vestibulo-vaginal care pot duce la stări de infecunditate.

Literatura de specialitate notează puține apariții sub formă de articole în care să se abordeze importanța acestor afecțiuni în activitatea de reproducție la vaca de lapte.

Cu toate acestea, au fost descrise vulvo-vestibulo-vaginitele de origine mecanică (apărute în urma parturițiilor distocice sau consecutiv unor infecții) și cele de origine infecțioasă (bacteriene și virale).

Cel mai voluminos capitol al primei părți este cel de-al III-lea (*Infecunditatea de origine uterină*), unde sunt descrise legăturile dintre producție și reproducție dar și cele mai importante afecțiuni care reprezintă factorul determinant al infecundității sau infertilității uterine la vacă.

Este adusă în discuție strânsa legătură dintre activitatea de reproducție și nutriție legătură care reiese din afirmația conform căreia pH-ul rumenal scăzut s-a asociat cu distocii, metrite și laminite. Un alt marker poate fi nivelul de glucoză scăzut înainte de fătare pentru diagnosticarea infecțiilor uterine la 5 și 7 săptămâni postpartum.

În timpul perioadei de tranziție, importanța nutriției rezidă din faptul că aminoacizii sunt necesari pentru a exporta grăsimea de la nivelul ficatului sub formă de lipoproteine. De-a lungul

timpului, s-a încercat scurtarea perioadei de tranziție prin reducerea perioadei de înțarcare sub 60 de zile. Acest lucru a fost benefic pe termen scurt prin îmbunătățirea parametrilor reproductivi. Începând cu ce-a de-a doua lactație această tactică s-a soldat cu eșec reproductiv.

Cervicitele au fost primele afecțiuni tratate, din punct de vedere teoretic în cadrul acestui capitol. Prin topografia sa, cervixul este accesibil numeroșilor factori traumatici și infecțioși în timpul parturii, dar și în perioada postpartum.

Din puținele surse bibliografice, au fost descrise manifestările clinice ale cervicitelor, impactul acestora asupra activității de reproducție dar și metodele de diagnostic aplicate până la acest moment.

Următorul aspect al celui de-al treilea capitol a fost cel în care s-au expus cele mai actuale cunoștințe despre mecanismele care favorizează producerea retenției învelitorilor fetale precum: parturiția indusă, scurtarea gestației, avorturile, gemelariitatea, distociile, fetotomiile, cezariana, carențele nutriționale precum carența în vitamina E, seleniu și caroteni, agenții infecțioși etc.. În strânsă dependență cu nutriția, retenția anexitelor a fost evaluată, de către unii autori, prin prisma modificărilor anumitor markeri metabolice (acizii grași neesterificați și β -hidroxibutiratul) și prin impactul acestora asupra supresiei răspunsului imun. Diferite protocoale de tratament au fost descrise pentru a minimiza impactul negativ al acestei afecțiuni asupra statusului productiv și reproductiv al vacilor.

Făcând referire la perioada puerperală, una dintre cele mai severe forme de infecunditate este reprezentată de metrita toxică, tulburare care afectează sistemic vacile în primele 2 săptămâni postpartum. Una dintre cele mai exacte metode de predicție a acesteia este reprezentată de doza raportului dintre acizii grași neesterificați și colesterolul circulant, raport care se poate aplica cu maxim două săptămâni înainte de data estimată a parturii.

Animalele care nu prezintă semne generale de boală dar au un uter crescut în volum și prezintă scurgeri vaginale fetide roșii-maronii după 21 de zile p.p., se consideră ca având metrită clinică. Această tulburare un efect negativ asupra performanțelor reproductive precum: întârziere în reluarea ciclicității după fătare, perturbarea mediului uterin și tulburări asupra dezvoltării embrionare. Totodată, scăderea ingestei va reduce energia necesară producției de lapte.

Subcapitole 3.6 și 3.7 sunt cel mai amplu dezbătute deoarece susțin baza teoretică a cercetării din partea a doua a acestei lucrări. Aici sunt discutate aspecte cu privire la

endometritelor clinice și subclinice, aspecte care fac referire la: etiologia, severitatea acestor boli, metodele de diagnostic clinic și paraclinic și la mijloacele de tratament.

Ultimul capitol este dedicat noutăților care stau la baza etiologiei, diagnosticului și tratamentului piometrului la vacă. Comparativ cu celelalte stări de boală, datele despre piometru nu aduc elemente de noutate prin aplicarea unor protocoale inovative de diagnostic și tratament.

Cea mai voluminoasă parte a lucrării de față, din punct de vedere al conținutului este cea de **Cercetări personale** unde sunt detaliate cercetările realizate pentru a satisface obiectivele propuse.

Primul capitol al acestei părți este cel de-al patrulea (*Scopul cercetărilor și descrierea cadrului instituțional în care s-au desfășurat*) în care sunt detaliate scopul și motivația studiului în contextul actual al extinderii globale.

Scopul lucrării a vizat identificarea afecțiunilor cauzatoare de infecunditate de la nivelul tractului genital inferior, folosindu-se diferite metode biotehnice de diagnostic. Același scop a urmărit testarea și implementarea diferitelor metode de tratament, parte din ele inovative, pentru a limita impactul negativ asupra funcției reproductive.

Dintre obiectivele urmărite menționăm: întocmirea unor efective de animale necesare pentru realizarea studiilor, astfel încât să fie reprezentative și suficient de mari, pentru a se putea trage concluzii pertinente, evaluarea puerperiumului la vacile de lapte din rasa Montbéliard și Holstein Friză, identificarea afecțiunilor tractului copulator și evidențierea influenței acestora activității de reproducție la primipare și multipare, diagnosticarea cervicitelor prin aplicarea unor noi protocoale, unele dintre acestea în premieră pentru țara noastră, diagnosticarea prin diferite tehnici a endometritelor subclinice la vacile de lapte din rasa Holstein, aplicarea unor protocoale inovative de tratament (în premieră pentru țara noastră) pentru vacile care sufereau endometrite clinice și calcularea indicilor reproductivi pentru a certifica metodele de diagnostic folosite, pentru a aprecia eficiența tratamentelor folosite și pentru a eficientiza funcția de reproducție.

Tot în acest capitol a fost descris intervalul de timp, locul în care s-au desfășurat cercetările și locațiile unde au fost prelucrate probele.

Capitolul al cincilea, intitulat *Cercetări privind etiologia și diagnosticul vulvo-vestibulo-vaginitelor la vacă*, a avut ca scop stabilirea incidenței și impactului negativ asupra funcției de reproducție a injuriilor care se pot întâlni la nivelul conductului vulvo-vestibulo-vaginal. Au fost luate în studiu un număr de 1772 vaci (primipare și multipare) de la trei ferme de profil din sudul

României. În cadrul studiului, desfășurat între anii 2014-2017, s-a urmărit numărul anual de fătări, asistența la fătare, numărul de fătări/femelă, numărul de fătări gemelare și sexul făturii. Aceste date au fost necesare pentru a se identifica care au fost cauzele care au determinat apariția diferitelor afecțiuni vulvare, vestibulare sau vaginale de natură mecanică.

După parturiție, prin inspecție și palpație au fost identificate leziuni precum: edemul și infiltrația, deșirările de pe acest traiect, vaginita necrotică, fistula recto-vestibulo-vaginală și vulvo-vestibulita granuloasă.

Din totalul celor 1772 de femele fătate, doar 7,95% au fost afectate de una sau mai multe patologii la nivelul conductului vulvo-vestibulo-vaginal. Parturițiile de fături masculine au produs diferite tipuri de patologii v.v.v. în procent de 5,75%, iar 4,90% au rezultat în urma fătărilor de fături feminine. Un procent de 0,16% din parturiții au fost gemelare.

Cel mai bun procent al ratei de concepție la prima î.a. (peste 30%) s-a realizat la ferma II, acolo unde efectivul este format din rasa Montbéliard, iar cel mai scăzut a fost la ferma I (20,49%).

Având în vedere incidența unor afecțiuni v.v.v. putem spune că cea mai frecventă afecțiune este reprezentată de edemul și infiltrația v.v.v., urmată de leziunile v.v.v.; fistula recto-vestibulo-vaginală a înregistrat cea mai mică incidență.

S-au propus recomandări precum stabilirea planului de potrivire al perechilor sau asigurarea asistenței la fătare cu scopul de a preveni apariția unor accidente și/sau remedierea acestora.

Capitolul al șaselea (*Cercetări privind diagnosticul cervicitelor la vacă*) și-a propus să evidențieze frecvența cervicitelor și diagnosticul acestora prin diferite metode. Studiul s-a desfășurat pe 113 vaci din rasa Holstein aparținând unei ferme din județul Prahova.

Femelele au fost evaluate prin examen palpatoriu transrectal, prin examen cu speculum vaginal și prin examen citologic endocervical. Aceste examene au urmărit date despre colul uterin, precum: consistența și diametrul cervical, aspectul mucoasei cervicale și numărul de celule polimorfonucleare de la nivelul mucoasei cervicale.

Tot în acest capitol a fost descrisă tehnica de lucru pentru realizarea anesteziei epidurale la vacă și tehnica realizării examenului citologic prin folosirea tamponului cu bumbac și a periei de recoltare a celulelor din structura mucoasei cervicale.

Prin metoda transrectală, s-a diagnosticat un cervix sănătos la 93,54% dintre primipare, respectiv 93,58% dintre multipare, iar cele care au avut un cervix dur și cu diametrul sub 7 cm au reprezentat 1,83% primipare, respectiv 4,58% multipare.

Prin vaginoscopie s-a evidențiat cel de-al doilea fald edemațiat, prolabat și hiperemiat la 12,90% din primipare și 28,20% din multipare, aceasta fiind cea mai gravă situație.

Prin tehnica cytobrush s-au obținut 109 lame pe baza cărora a rezultat că 28,44% (31) dintre animale au fost diagnosticate cu cervicită ($PMN \geq 5\%$), iar restul de 71,55% (78) au fost negative ($PMN < 5\%$). Folosindu-se tehnica cu tamponul de bumbac, s-au etalat pe lame doar celulele epiteliale și mucus cervical.

În finalul capitolului, recomandările enunțate au fost: cele legate de aplicarea metodelor de diagnostic cât mai repede de la finele încheierii puerperiumului și dotarea fermelor cu un minim necesar pentru a se realiza colorarea și evaluarea frotiurilor cervicale.

Cel de-al 7-lea capitol, intitulat *Cercetări privind diagnosticul endometritelor subclinice la vacă*, și-a propus stadializarea endometritelor subclinice prin folosirea diferitelor tehnici de diagnostic și, de asemenea, dacă există o corelație între vacile care prezintă cervicite și cele care prezintă endometrite subclinice.

În cadrul cercetării au fost folosite aceleași animale din studiul anterior, cărora li s-a examinat corpul și coarnele uterine în timpul perioadei de repaus voluntar și în momentul î.a. folosindu-se examenul palpatoriu transrectal, examenul citologic endometrial, examenul biopsic, examenul microbiologic, examenul ecografic transrectal, examenul prin care se apreciază activitatea esterazei leucocitare și examenul White side.

S-a observat că palparea cervixului și a uterului la primipare prezintă o corelație de 0,97 de unde se poate trage concluzia că endometritele se asociază cu cervicitele în cazul multiparelor din rasa Holstein în timp ce în cazul primiparelor, cervicitele pot apărea independent de inflamațiile uterine. În ceea ce privește rezultatul citologic endocervical și cel endometrial se înregistrează o corelație scăzută între cele două examene la primipare (0,47) și o corelație crescută la multipare (0,99). Prin aplicarea examenului bacteriologic au fost identificate un număr de 4 specii de bacterii Gram-negative și 8 specii bacteriene Gram-pozitive, cea mai frecventă fiind *Escherichia coli* urmată de *Staphylococcus hyicus*.

În urma evaluării tuturor rezultatelor a rezultat că cea mai fidelă metodă de diagnostic a endometritelor subclinice rămâne examenul histopatologic al endometrului.

În ceea ce privește indicii reproductivi, perioada de repaus voluntar acceptat a fost de 84,72 zile la vacile cu endometrită subclinică severă, iar rata concepției la prima î.a. a înregistrat un procent de 36,50% la aceeași categorie de animale.

În capitolul al 8-lea (*Cercetări privind tratamentul endometritelor la vacă*) sunt descrise cinci protocoale de tratament aplicate la un număr de 133 de vaci diagnosticate cu endometrită clinică. Rezultatele eficacității au fost comparate cu rezultatele celor 52 de vaci martor folosindu-se parametrii reproductivi.

Elementul de noutate al acestui capitol constă în aplicarea tratamentului cu ozon și cu N-acetilcisteină, pe lângă folosirea unor produse tradiționale reprezentate de complexe de antibiotice și antiseptice sau a celor pe bază de extracte din plante sau cu enzime proteolitice.

Cel mai eficient protocol de tratament a fost cel în care s-a folosit combinația de antibiotice, antiseptice și N-acetilcisteină, obținându-se cea mai crescută rată a concepției la prima î.a. (63,1%) și cel mai scurt service-period (93 zile) din cadrul studiului. Cel mai ineficient tratament a fost cel înregistrat la lotul de vaci la care s-a administrat extractul din plante (rata concepției la prima î.a. de 37,2% și service-period-ul de 121,5 zile).

Dintre recomandările acestui capitol amintim implementarea unui tratament cu antibiotice, antiseptice și N-acetilcisteină cât mai repede posibil pentru femelele care prezintă endometrite clinice.

Capitolul al nouălea este dedicat *concluzilor generale și recomandărilor practice* și își propune să sintetizeze cât mai fidel rezultatele obținute în urma cercetărilor efectuate pentru a sublinia realizarea obiectivelor propuse.

Bibliografia lucrării de față este relevantă în capitolul al zecelea unde sunt enumerate 294 de surse bibliografice. Dintre acestea, 285 surse sunt reprezentate de articole publicate în diferite reviste științifice de profil, 6 sunt reprezentate cărți în domeniu, iar 3 sunt teze de doctorat. Ponderea articolelor publicate începând cu anul 2016 este de peste 40%, iar pentru cele publicate între anii 2009-2015 este de peste 38% din totalul celor 285 de articole. De aici rezultă că peste 78% din sursele bibliografice sunt din ultimii 10 ani.

Ca elemente de originalitate aduse de această teză de doctorat enumerăm:

- Realizarea unui studiu amănunțit asupra incidenței leziunilor de la nivelul conductului vulvo-vestibulo-vaginal și consecințele acestora asupra reproducției;
- Prezentarea unor date despre incidența cervicitelor la finele perioadei puerperale;

- Elaborarea unor metode de diagnostic pentru a indentifica într-o manieră modernă cervicitele și endometritele subclinice;
- Implementarea unor portocoale de tratament inovative precum cel cu ozon sub formă de spray sau cel cu soluție de N-acetilcisteină.