

РЕПРОДУКЦИЈА КРАВА, НОВИ УВОЗ-СТАРЕ НАВИКЕ
(специјалистичке-лабораторијске услуге и
практична решења за побољшање плодности)

Александар Миловановић, Томислав Барна, Дејан Бугарски
Научни институт за ветеринарство-”Нови Сад”

Кратак садржај

У овом раду је описан приступ решавању стадног стерилитета потенцирајући активности на проблемима откривања субклиничког ендометритиса, еструса, оптималног момента осемењавања, ране дијагнозе стеоности и педантне, сврсисходне евиденције као основних праваца у решавању проблема савременог узгоја музних високопродуктивних крава.

Кроз конкретне примере, фармске записе и ретроспективу извршених лабораторијских анализа са мишљењима, теренски ветеринари ће бити упознати са могућношћу решавања практичних проблема асимптоматског стерилитета и начином контроле еструса. Планским, интензивним спровођењем програма контроле репродукције могуће је побољшати плодност запата за 10-15% (стеоност крава од 80% на нивоу године, рачунато без јуница). Основни проблем се односи на поступке припреме и скраћење просечног времена до првог осемењавања, откривање еструса, проблема субклиничког ендометритиса, као и последица негативног енергетског биланса.

Циљеви добре репродукције на нашим фармама могу се остварити уз систематски интензивни програм прегледа, контроле и побољшања ефикасности рада стручне службе, уз вођење евиденције на сврсисходан начин.

Кључне речи: млеко, прогестеронски тест, репродукција, ултразвучни преглед

Слаба репродуктивна ефикасност представља глобални проблем на фармама млечних крава са интензивном производњом млека како у свету тако и код нас. Млечно говедарство у Србији је годинама у неповољној позицији о чему сведочи пад броја музних крава, са једне стране и непрестани увоз стеоних јуница, са друге стране. Издвајају се огромна средства на континуирани увоз приплодног материјала који често не оправдава уложена очекивања, или бива прихваћен и вођен на начин који не обезбеђује просту репродукцију запата. Економски губици настали као последица лоше репродукције су први разлози финансијског неуспеха и гашења већине фарми у Србији. Интерес успешних одгајивача крава и ветеринарске струке на таквим фармама јесте у повећању броја приплодних јуница врхунског квалитета за шта је неопходна одлична евиденција, јасна дијагностика репродуктивних проблема и конзистентан план спровођења контроле, терапије, осемењавања и селекције крава.

Откривање субклиничког ендометритиса, еструса, оптималног момента осемењавања и ране дијагнозе стеоности представљају један од основних проблема савременог узгоја високопродуктивних музних крава. Такође, педантна и сврсисходна евиденција која се активно користи у анализи не само

прошлых података него и за планирање активности на дневном, недељном или месечном нивоу су готово неизводљиви без савремених софтверских програма, а томе се не поклања довољна пажња. У овом раду је описан приступ решавању стадног стерилитета управо потенцирајући активности на наведеним проблемима.

Пре почетка рада на фарми, без обзира на број грла, неопходно је поставити јасне циљеве који су лако мерљиви. Оптимална репродукција која обезбеђује могућност ремонта и селекције грла може се остварити уколико се постигне тељење код 80% крава на нивоу године, што на месечном нивоу износи око 7% стеоних крава. Укључивањем отељених јуница (првотелки) у ову статистику добија се искривљена слика успеха на фарми, односно, прикрива се истинита ефикасност на пољу репродукције.

Графикон 1. месечна евиденција успеха осемењавања, са задатим циљевима

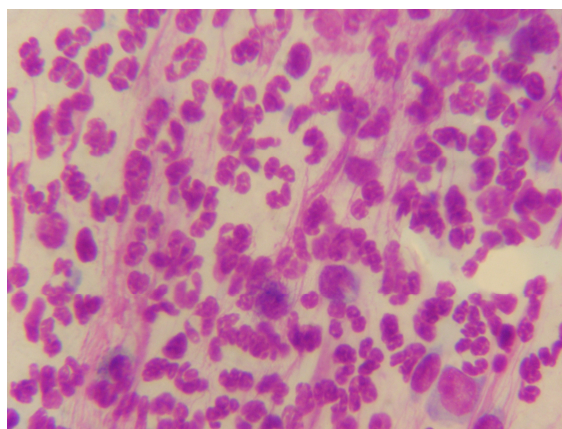


Следећи корак односи се на ретроспективу репродуктивних података (2 године у назад) и спровести гинеколошки преглед свих крава. Клинички преглед се допуњује бактериолошким прегледом матичног секрета. Материјал за бактериолошки преглед узима се директно из утеруса помоћу једнократних пластичних стерилних специјалних катетера (Cyto-Bact-NIV-NS, General Medic, Србија). Бактериолошким прегледом ексфолијата матичне слузокоже одређује се одговарајући антибиограм за субестралну терапију и клинички блаже степене упале матице (бо1, бо2).

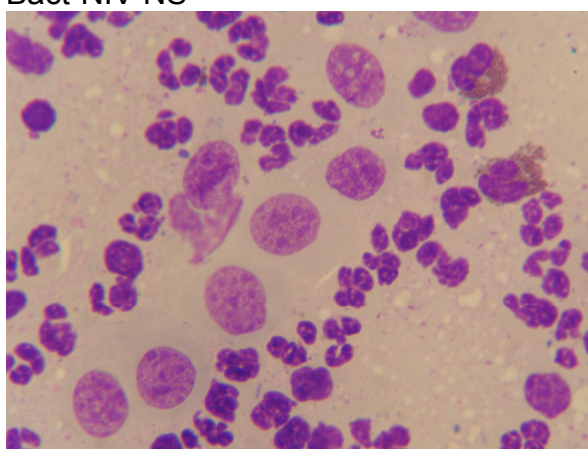
Понекад се на основу резистенције бактерија може установити који су антибиотици били дуготрајни изборни у интра-утериној апликацији (развијена резистенција). Као доминантна микрофлора код проблематичних крава у касном пуерперијуму углавном се изолује *Arcanobacter pyogenes*, а код хроничних ендометритиса најчешће су изоловане *Escherichia coli* и *Streptococcus α-haemolyticu*.



Ексфолијат слузокоже материце за бактериолошки преглед узиман је помоћу једнократних пластичних стерилних специјалних катетера Cyto-Bact-NIV-NS



Цитолошки размаз са грлића материце (обилје ПМН леукоцита)



Цито-морфолошки размаз ексфолијата слузокоже материце (May-Grünwald/Giemsna, 1000×)



Обележавање кредом по корену репа (контрола заскакивања)

Неопходно је усагласити налазе приликом ректалног прегледа са ординирајућим ветеринаром. Клинички-ректални преглед крава врши се уз протокол са понуђеним дијагнозама и налазима на полним органима. Први део протокола обухвата основне податке о крави (датум рођења, редослед последњег тељења, податке о лактацији итд.). Поступак клиничког-ректалног прегледа крава треба да подразумева адспекцију предворја вагине и ректалну експлорацију унутрашњих полних органа. Најпре се врши папација грлића материце и палпацијом оцењивали његову тврдоћу, дебљина и евентуална патолошка промена (тумори, задебљања и отечења *Portio vaginalis uteri* - PVU, *Cervicitis*). Количину и изглед исцетка из вагине може се оценити после извлачења шаке до ампуле ректума, уз притискивање вагине по дну карлице, чиме се исцедак истискује напоље, исцедак можемо сакупити навлаком-инсеминометом постављеном на шприцу од 20 мл или отиском са грлића матерце. Новије технике омогућавају дигиталну визуелизацију грлића материце и вагине колпоскопом са видео камером (идејно решење у НИВ-НС). На основу ових налаза, одређивана је дијагноза клиничких ендометритиса у складу са методологијом по Küst-у и Schaetz-у (цит. Миљковић, 1971.): *Endometritis*

catarrhalis acuta (y. E₁), *Endometritis purulenta chronica* (y. E₂) и *Endometritis suppurativa* (y. E₃). Додатну поделу супклиничких ендометритиса извршили смо по интерној методологији (Јовичин и сар., 2000.), на: y. бо (uterus bo, involutio seu sanatio uteri bene obducta, без изражених промена), y. бо₁ (утерус бо₁, благе промене, углавном атонија материце и истањен матерични зид), и y. бо₂ (утерус бо₂, нешто израженије промене, углавном асиметрија једног материчног рога).

На основу антибиограма, као лекови избора у директном лечењу ендометритиса углавном се одабирају препарати треће и четврте генерације цефалоспорина и енрофлоксацин. За тврдокорне и хроничне случајеве упале материце (E1 и E2) антибиотска терапија захтева вишекратну апликацију, често са каренцом лекова, те се уместо тога препоручује употреба дезинфицијенаса: 2-3% раствор лугола у количини од 70-150 мл (Iodi solutio aquosa s. Solutio Lugoli (PH. JUG. IV, 1984) или хлорхексидина.

Код крава са асимптоматским стерилитетом (око 5% крава) пожељно је да се испита цитолошки брис или испирак материце. Уколико се на размазу уочава >18% полиморфонуклеарних леукоцита-ПМНЛ, у односу на епителне ћелије материце, сматра се да је у питању ендометритис. Уколико се налази до 10% након 34. дана, у питању је субклинички ендометритис, који се манифестује са учесталијим повађањима (Kashimanicam и сар., 2004).

У редовној пракси третмана ендометритиса бактеријске етиологије углавном се користе антибиотици, антисептици и хормони. Лоша страна антибиотика јесте развој бактеријске резистенције, високи трошкови третмана и слабљење одбрамбене улоге материце. Антисептици могу да изазову некрозу ткива са дужим периодом опоравка. Врло охрабрујуће резултате добијени су терапијом са хомоложном крвном плазмом код хроничних субклиничких ендометритиса са или без додавања гликогена острига. Клиничка индикација односи се на случајеве када није установљена посебна бактериолошка етиологија ендометритиса и као превенција рекурентног ендометритиса код крава склоних инфекцијама материце. Ове две компоненте синергистички делују као интраутерини имуномодулатори (алтернативни приступ у терапији ендометритиса). Успех третмана ендометритиса крвном плазмом подржава *in vitro* опсервацију да су опсонини из серума, поготово компоненте комплемент битан фактор у појачавању фагоцитозе. Третман инфузијом плазме заснован је на претпоставци да је субфертилитет настао као последица недовољне концентрације компонената комплемента и антитела у лумену материце и да је крвна плазма обилан извор свих опсонина. Са друге стране, гликоген острига делује као хемоатрактант, стимулише масован прилив полиморфонуклеарних лимфоцита у лумен материце. Користи се у концентрацијама од 0,1 и 10% раствор у 60 мл пуферизованом фосфатном пуферу (Anderson и сар., 1985). Након примене ове терапије може се очекивати успех и до 60% код грла са 4 и више осемењавања у наредна два циклуса.

Такође, примена 0,02% раствора хлорхексидина у раном пуерперијуму може да послужи као алтернативна терапија антибиотским препаратима (хлорхексидин глуконат у концентрацији од 0,2 до 0,5 mg/ml; Петрујкић и сар., 2008).

Следећи вид алтернативне терапије може бити употреба комбинације ЕДТА-ТРИС непосредно пре антибиотског третмана или третмана хлорхексидином. Теоретски ЕДТА везује јоне Ca^{++} на површини бактеријског зида и чини га пропустљивим за антибиотике и дезинфицијенсе у вишеструко мањим концентрацијама.

У редовној пракси проблеми цервицитиса и склерозе цервикса често се превиђају или клиничари немају адекватну терапију. У ту сврху користи се тзв. неуротерапија–супраректална, односно парацервикална инјекција (раствор прокаин хидрохлорида 10 мл и воде 10 мл, код дијагноза *Sclerosis cervici* и задебљања и отечења *Portio vaginalis uteri – PVU*, или прокаин хидрохлорида 10 мл и антибиотика 10 мл, код дијагноза *Parametritis et oophoritis adhaesiva* и *Paracervicitis*). Третман захтева 2 и више понављања на 7-10 дана.

Ациклични јајници третирани су директном или потпорном терапијом (минерално-витамински коктели, масажа материце и/или хормонална терапија препаратима ГнРХ, СЖК, естрогена или Прегнила). За очување гравидног стања неопходан је висок ниво прогестерона јер се лутеална дефицијенција сматра једним од узрока неплодности (Parkinson, 2001). У случају пада концентрације прогестерона у раном периоду гравидитета долази до угинућа ембриона или побачаја. Ако жуто тело није потпуно формирано или му је функција поремећена због различитих спољашњих или унутрашњих фактора, синтетише се мања количина прогестерона и услед тога долази до прекида гравидитета.

Ради побољшања плодности данас се користе хормоналне терапије које покрећу функционисање полних органа са циљем појаве еструса и успешне концепције након вештачког осемењавања.

Одлагање лутеализе може побољшати степен концепције јер омогућује ембриону више времена да произведе довољну количину интерферона τ (тау) одговорног за мајчинско препознавање гравидности.

Елиминација или смањење производње естрадиола из доминантног фоликула током критичног периода раног гравидитета је за неке ауторе прихватљива стратегија у повећању плодности (Thatcher и сар., 2000; Binelli и сар., 2001). Један од начина да се ово постигне је употреба препарата ГнРХ, хЦГ или прогестерона како би се утицало на функцију фоликула.

Употреба препарата прегнила у терапији крава са 3 и више осемењавања 9. дана циклуса након осемењања доводи до вишеструког повећања концентрације прогестерона 14. дана циклуса (са 5,22 нг/мл на 21,72 нг/мл. Побољшање концепција након третмана износиле су око 10% (Барна, 2010).

Еструс се може детектовати на основу спољашњих знакова и ректалним прегледом (стање јајника, материце, грлића). Контролу оптималног момента осемењавања употпуњено је вагиналним прегледом (отвореност цервикса, присуство и оцена квалитета слузи) и, повремено, прогестеронским ЕЛИСА тестом из пуномасног млека, узетог на дан осемењавања. Прогестеронски тест осим за откривање момента осемењавања коришћен је за утврђивање раног гравидитета (18-24. дана од ВО), а код проблематичних крава (ситни јајници, неправилни интервали циклуса, више од 3 осемењавања) и за контролу нивоа

прогестерона у средини лутелане фазе (14. дан од в.о.), хормонски статус код тврдокорних циста и за нејасне налазе на јајницима. Уколико није долазило до концепције, а ниво прогестерона није био довољно висок 14. дана (хипофункција жутог тела), спровођена је стимулација формирања акцесорних жутих тела апликацијом хормонског препарата Прегнила 7-10. дана након наредног осемењавања.

За прогестеронски тест узоркује се око 8 мл млека из клинички здравих четврти у пластичне епрувете запремине 10 мл. Као конзерванс коришћене су таблете са 3,3 мг калијум бихромата (Merck, Darmstadt, Немачка). Узорци се могу допремити до лабораторије за репродукцију обиласком фарме или су коришћењем услуга брзе поште. У већини случајева, резултати анализе су електронском поштом враћани другог дана од слања узорака, чиме је омогућено да се еструс код крава са ниским концентрацијама прогестерона (≤ 2 нг/мл) на време открије. Провера стеоности спроводи се у размацама од 1 до 1,5 месеци помоћу ултразвучног апарата Siui (Shantou, Кина) са ректалном сондом промењиве фреквенције (2,5, 5 и 7,5 МХз), 26-40. дана након осемењавања. Неопходан је обазрив преглед и закључак код стеоности до 27-28. дана након осемењавања, па је спровођен само преглед без даље интервенције. Након 28. дана од в.о., интензивно је спровођена (ре)синхронизација нестеоних крава простагландинским препаратима.

Сви репродуктивни параметри анализирају се помоћу софтверског програма DairyQuest (власник Profitsource, LTD, САД, лиценца и превод НИВ-НС). План активности ветеринарске службе је аутоматски генерисан уписом гинеколошких налаза или одговарајућег третмана (на основу постављених захтева о учесталости прегледа крава након тељења, прегледа након осемењавања, потврде стеоности, лечења циста, третмана ендометритиса, синхронизације, прегледа пре засушења, времена узимања узорака за прогестеронски тест и апликације лекова према одговарајућем клиничком налазу. Акценат програма је на непрестаном генерисању листа крава расположивих за осемењавање (1. отељене-неосемењене краве након 50. дана лактације; 2. осемењене-пристигле на преглед на стеоност, и 3. нестеоне краве). Листа за осемењавање води се на недељном нивоу и обухвата краве код којих се очекује еструс на основу прегледа и запажених фоликула (преко 1 цм у пречнику), на основу синхронизације простагландинским препаратима и на основу уписа претходног пропуштеног еструса или осемењавања. Таква грла обележавају се кредом по корену репа, ради лакше идентификације, чешћег прегледа и контроле да ли су заскакане. По потреби, креде се освежавају уколико није запажен циклус, а избрисане су уколико је започета (настављена) терапија репродуктивних органа или је извршено осемењавање.

Предвиђање почетка еструса односно, потврда негравидног стања може се дефинисати на основу пада, тј. ниског нивоа концентрације прогестерона у млеку из узорака који се узимају 19-22. дана после осемењавања. Гранична вредност за погрешно време осемењавања дефинисана је концентрацијом прогестерона ≥ 2 нг/мл. Код око 12% узорака прогестерон може бити виши од 2 нг/мл, што је указивало на погрешан моменат инсеминације. Тачност откривања еструса на основу прогестеронског теста износио је 88% (44/50). Према истраживању неких аутора (Reimers и сар., 1985; Struman и сар., 2000;

Ranasingha и сар., 2009) 5,1%, 19% и 22,1% крава се осемени у лутеалној фази циклуса.

Абортуси и ембрионална угинућа код крава најчешће су разлози присуства ИБР и БВД вируса, Neospore caninum, слабијег квалитета кабасте хране, микотоксикоза и нередовно снабдевање минерално-витаминским препаратима. Сви абортуси могу се испитати о трошку државе уколико се крв, фетуси или постељице упуте на преглед уз записник ветеринарске инспекције. Нажалост, достава ових узорака је заиста ретка.

Основни проблем на фармама са високом производњом јесте дуго просечно време до првог осемењавања (око 100 дана лактације), што је вероватно последица негативног енергетског биланса, проблема са кондицијом крава и повећаним процентом кетозних крава.

Употреба оцене телесне кондиције представља једноставан алат за добру контролу транзиционог периода, поготово уколико се комбинује са количином и хемијским саставом млека (ондос млечне масти:протеина). Тиме се могу увидети избалансираност оброка и какве се последице могу очекивати по даљу репродукцију. Наиме, губитак преко једне до 1,5 оцене телесне кондиције доводи до знатног смањења успеха код првог осемењавања.

Плодност крава је под утицајем енергије и здравственог стања већ 2-3 месеца пре периода осемењавања. Исто тако, популација фоликула на јајницима који се припремају за овулацију трпи оштећења код крава са израженим негативним енергетским билансом, чије се последице испољавају чак и 2 до 3 месеца касније. Негативни енергетски биланс током првих 9 дана после порођаја смањује ниво прогестерона крава током лутеалне фазе, у њиховом другом и трећем постпарталном циклусу. Физиолошки је потребан развој жутог тела нормалне величине и производња прогестерона за отпочињање редовних полних циклуса. Краве које губе знатну количину телесне масе, више од 0,50 ОТК у раној лактацији, имају продужено трајање еструса, односно већи број дана до овулације и знатно смањен проценат концепције у прва три осемењавања (Senatore i сар., 1996).

Краве са ОТК већим од 4,00 имају знатно већи ризик појаве мртворођених телад и чешће инфекције утеруса. Разлог је у слабијем тону мускулатуре материце у односу на краве у одговарајућим кондицијама. Јако мршаве краве су још подложније инфекцијама.

Краве које трпе знатније смањење ОТК имају нарушену плодност, пошто успостављање полних циклуса и поновни гравидитет у условима недостатка енергије за њих нису приоритетни. У просеку прва овулација наступа 10 дана после достизања максималне изражености негативног енергетског биланса, што указује да опорављање после стања НЕБ може да обезбеди сигнал за почетак оваријалне активности. Краве које у току првих 5 недеља лактације изгубе више од једне оцене ОТК, имају дужи период до појављивања првог еструса, дужи период до првог осемењавања, већи индекс осемењавања и већи број дана до концепције (дужи сервис период), у односу на краве које су изгубиле мање од 1,00 ОТК. Крава које не циклирају, теже подносе губитак ОТК у односу на оне које циклирају. То је пре последица смањеног уноса хране, тј. слабијег апетита, него високе производње (Smith и сар., 1983).

Табела 4. Ефекат промене ОТК током првих пет недеља после порођаја на репродуктивне одлике крава (Према: Smith i sar., 1983).

Промена ОТК	Стеоност после 1. в.о.* (%)	Од тељења до прве овулације (дана)	Од тељења до првог еструса (дана)	Сервис период (дана)
Блага (<0,40 ОТК)	65	27	48	73
Средња (0,50-1,00 ОТК)	53	31	41	90
Јака (>1,00 ОТК)	17	42	62	116

* в.о.- вештачко осемењавање;

Преломна вредност, у односу на коју се запажа драстичан пад успешности првог осемењавања је ОТК 2,50, односно то је губитак једне оцено од оптималних 3,50-3,75 пре тељења.

Техника оцењивања телесне кодиције детаљније је описана у приручнику (Миловановић и сар., 2005).

Након телења 20–40 дана код репродуктивно здравих крава долази до појаве првог еструса и успостављања полног циклуса, врло често код великог броја крава то није случај па смо приморани да користимо препарате који покрећу функционисање полних органа. Сматра се да, у добрим запатима, интервал од телења до првог осемењавања треба да износи 45 до 60 дана. У случају да је овај интервал дужи од 60 дана, постоје озбиљни проблеми у репродукцији, па се мора извршити детаљна анализа, како би се утврдили и отклонили разлози који доводе до овог проблема (*Walker, 1997; Петрујкић и сар., 1993; Kasimanickam и сар., 2002*). Гвоздић и сарадници (2011) у свом истраживању указују да перипартални поремећаји значајно продужавају период од телења до првог осемењавања за 79-120 дана.

Приликом анализе плодности стада често налазимо грла која при вагиналном и ректалном прегледу немају патолошких промена на полним органима, осемењене су више пута са семеном различитих бика, имају редоване полне циклусе без успешне концепције, тада говоримо о безсимптоматском стерилитету. Безсимптоматски стерилитет је појава која се јавља код крава са уредним репродуктивним налазом и правилним полным циклусом без успеха приликом осемењавања. Тражењем узрока безсимптоматског стерилитета треба да обратимо пажњу на: пропусте приликом в.о. анализирајући појединачне резултате осеменитеља, поремечаје приликом овулације и оплодње, постојање латентних процеса на полним органима, хормонални поремечаји у нивоу прогестерона и естрогена могу утицати на појаву раног ембрионалног угинућа. Такође, сумња се мора поставити и на квалитет семена.

На успех осемењавања може да утиче и ниво естрогене активности луцерке. Фитоестрогени се могу испитати биолошким тестом на полно незрелим женкама пацова (*Јовичин и сар., 2004*). Анализа производних параметара указује на постојање повезаности естрогене активности сена луцерке у периоду у коме музне краве добијају луцерку у оброку и укупне количине млека, музног просека и садржаја млечне масти. Запажен је негативан утицај на испољавање полног жара, односно број осемењених крава,

као и утицај на смањену успешност осемењавања, повећан индекс осемењавања и дужи просечан сервис период.

Закључак

Добијени резултати указују да се циљеви добре репродукције могу остварити уз систематски интензивни програм прегледа, контроле и побољшања ефикасности рада стручне службе на фарми музних крава као и вођењем евиденције на сврсисходан начин. Једногодишњом интензивном применом програма могуће је остварити стеоност код 80% крава.

Неопходан је упоран, свакодневни рад, са јасним планом активности и повратним информацијама о резултату појединачних примењених мера. Посвећен, мотивисан и савестан стручни рад су незамењива карика успешног програма репродукције у условима адекватне исхране и смештаја крава и приплодног подмлатка.

Литература:

1. Барна Т: Могућност примене прогестеронског ЕИА теста у контроли репродукције музних крава, специјалистички рад. Београд, Факултет ветеринарске медицине, Катедра за породилство, стерилитет и вештачко осемењавање домаћих животиња, 2010.
2. Binelli M, Thatcher WW, Mattos R, Baruselli PS, 2001, Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle, Theriogenology, 56,1451-63.
3. Jovičin M., Petrujić T.: Biopsija uterusa i subestralno lečenje endometritisa krava. Drugo savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja, Budva, 12 -16 jun 2000 godine, Zbornik radova, str. 21-34, Beograd, Fakultet veterinarske medicine, 2000 (srp)
4. Јовичин М, Адамовић М, Бугарски Д, Божовић В, Миловановић А, 2000, Утицај рађања мртворођене телади на међутелидбени период и производњу млека крава млечних раса. XV Саветовање агронома, ветеринара и технолога у Аранђеловцу, Зборник научних радова, Агроекономик, 381-90.
5. Јовичин М, Петрујић Т, Миловановић А, Дујаковић М, Жижић Д, 2003, Анализа фактора који утичу на ток естралног циклуса високомлечних крава, Ветеринарски гласник, 209-23.
6. Јовичин М., Миловановић А., Бескоровајни Р., Ушћебрка Г., Жижић Д., Вуковић М., Николић Р., Радивојевић М.: Испитивање утицаја естрогене активности сена луцерке на производне и репродуктивне показатеље музних крава на фармама ПКБ корпорације. Зборник научних радова, Агроекономик, ИССН 0354-1320, 17-23, 2004.
7. Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, 2004, Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. Theriogenology, 62, 9-23.
8. Миловановић А., Јовичин М., Шаманц Х.: Оцењивање телесне кондиције крава холштајн-фризијске расе. Београд, Ветеринарска комора Србије, 2005.
9. Nakao T, Sugihashi A, Saga N, Tsunoda N, Kawata K, 1983, Use of milk progesterone enzyme immunoassay for differential diagnosis of follicular cyst, luteal cyst, and cystic corpus luteum in cows, Am J Vet Res, 44: 888-90.
10. Parkinson, T.J. (2001). Infertility in the cow. In: Noakes, E.D., T.J. Parkinson, G.C.W. England (Eds.), Arthur's Veterinary Reproduction and obstetrics. 8th ed. (pp. 383-472). Saunders Company, USA.
11. Petrujić T., Petrujić B, Jeremić I, Treatment of endometritis and disorders in Puerperium with usage of matters without withdrawal period in dairy cows, Lucrări științifice Medicină Veterinară VOL. XLI, 2008, Timisoara, 178-181.
12. Ranasinghe R, Nakao T, Kobayashi A, 2009, Incidence of Error in Oestrus Detection Based on Secondary Oestrus Signs in a 24-h Tie-Stayed Dairy Herd with Low Fertility, Reprod Dom Anim, 44, 643-6.

13. Reimers TJ, Smith RD, Newman SK, 1985, Management Factors Affecting Reproductive Performance of Dairy Cows in the Northeastern United States. *J Dairy Sci*, 68, 4, 963-72.
14. Senatore EM, Butler WR, Oltenacu PA, 1996, Relationships between energy balance and post-partum ovarian activity and fertility in first lactation dairy cows, *J Anim Sci*, 62, 17-23.
15. Smith, Perkins, Sniffen, Pearson, page 20, in *Proc. Cornell Nut. Conf.*, Georgia, USA, 1983.
16. Sturman A, Oltenacu B, Foote H, 2000, Importance of inseminating only cows in estrus, *Theriogenology*, 53, 8, 1657-67.
17. Thatcher WW, Mattos R, Moreira F, Binelli M, Ambrose JD, 2000, Experimental manipulation of follicular growth, *Reprod Domest Anim*, 6, 27-33.