

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
VETERINARIJOS AKADEMIJA

Veterinarijos fakultetas

Ernestas Mickūnas

**Galvijų bandos valdymo programos fiksuojamo pieno riebalų -
baltymų santykio padidėjimo, kaip ketozės indikatoriaus,
įvertinimas.**

**Evaluation of increase of fat to protein ratio in milk as an indicator
of ketosis recorded by a cattle herd management software.**

Veterinarinės medicinos vientisųjų studijų
MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

Darbo vadovas: Mingaudas Urbutis

Kaunas, 2023

DARBAS ATLIKTAS (nurodyti padalinį)

PATVIRTINIMAS APIE ATLIKTO DARBO SAVARANKIŠKUMĄ

Patvirtinu, kad magistro baigiamasis darbas „Galvijų bandos valdymo programos fiksuojamo pieno riebalų - baltymų santykio padidėjimo, kaip ketozės indikatorius, įvertinimas“:

1. yra atliktas mano paties (pačios).
2. nebuvo naudotas kitame universitete Lietuvoje ir užsienyje.
3. nenaudojau šaltinių, kurie nėra nurodyti darbe, ir pateikiu visą naudotos literatūros sąrašą.

(data)

(autorius vardas, pavardė)

(parašas)

PATVIRTINIMAS APIE DARBO LIETUVIŲ KALBOS TAISYKLINGUMĄ

Patvirtinu, kad darbo lietuvių kalba taisyklinga.

(data)

(redaktoriaus vardas, pavardė)

(parašas)

MAGISTRO BAIGIAMOJO DARBO VADOVO IŠVADA DĖL DARBO GYNIMO

Patvirtinu, kad darbas atitinka reikalavimus ir yra parengtas gynimui

(data)

(darbo vadovo pareigos, mokslinis
laipsnis, vardas, pavardė)

(parašas)

**MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS APROBUOTAS
KATEDROJE/KLINIKOJE/INSTITUTE**

(aprobacijos data)

(katedros (klinikos) vedėjo (-os)
pareigos, mokslinis laipsnis,
vardas, pavardė)

(parašas)

Magistro baigiamojo darbo recenzentas

(pareigos, mokslinis laipsnis, vardas, pavardė)

(parašas)

Magistro baigiamųjų darbų gynimo komisijos įvertinimas:

(data)

(gynimo komisijos sekretorės (-iaus) vardas,
pavardė)

(parašas)

TURINYS

SANTRAUKA.....	4
SUMMARY.....	6
SANTRUMPOS.....	8
ĮVADAS.....	9
1. LITERATŪROS APŽVALGA	11
1.1 Automatinės melžimo sistemos	11
1.2 Ketozė	11
1.2.1 Ketozės patogenezė	12
1.2.2 Ketozės rizikos veiksniai	12
1.2.3 Ketozės klasifikacija.....	13
1.3 Svarbūs rodikliai nustatant ketozę.....	14
1.3.1 Biocheminiai kraujo rodikliai	14
1.3.2 Greitieji kraujo tyrimai	16
1.3.3 Pieno rodikliai	17
2. TYRIMO METODAI IR MEDŽIAGA	19
3. TYRIMO REZULTATAI	22
4. Rezultatų aptarimas.....	29
Išvados.....	32
Rekomendacijos.....	33
Padėka	34
LITERATŪROS SĄRAŠAS	35

GALVIJŲ BANDOS VALDYMO PROGRAMOS FIKSUOJAMO PIENO RIEBALŲ - BALTŲMŲ SANTYKIO PADIDĖJIMO, KAIP KETOZĖS INDIKATORIAUS, ĮVERTINIMAS.

Ernestas Mickūnas

Magistro baigiamasis darbas

SANTRAUKA

Darbo tikslas ir uždaviniai. Išsiaiškinti ir įvertinti šviežiapienių karvių pieno riebalų ir baltymų santykio pakilimo, kaip ketozės indikatoriaus reikšmę ir palyginti tiriamųjų galvijų kraujo serumo biocheminius parametrus ir bandos valdymo programos parametrus su sveikų galvijų kontroline grupe.

Medžiagos ir metodai. Tiriamoji grupė (TG) (n=13) sudaryta remiantis „Lely Astronaut 3” (Lely, The Netherlands) „Time for cows” bandos valdymo programos sveikatingumo analize. Atrinktos karvės su padidėjusiu pieno R/B (>1,4) ir su normos ribose kraujo BHB konc. (<1 mmol/L), (BHB kraujyje vidurkis buvo 0,4 mmol/L, GLU – 3,1 mmol/L, R/B - 1,61). Kontrolinė grupė (KG) (n=15) – analogų principu atrinktos karvės: tos pačios laktacijos, panašaus produktyvumo, panašios dienos laktacijoje karvės su normos ribose esančiu R/B ir normos ribose esančiais kraujo Glu (2,5-3,5 mmol/L) ir BHB (<1 mmol/L), (BHB kraujyje vidurkis buvo 0,5 mmol/L, GLU – 2,9 mmol/L, R/B - 1,11). Atrinkus karvę į tiriamąją grupę ir jai radus analogą abejoms karvėms buvo imamas kraujo mėginys tą pačią dieną. Mėginiai imti į vakuuminius mėgintuvėlius (BD Vacutainer, Anglija). Kraujo mėginiai buvo centrifuguojami, kad atskirti kraujo serumą nuo kitų kraujo dalių, serumas buvo šaldomas, vėliau mėginiai ištirti ir palyginti rezultatai tarp tiriamosios ir kontrolinės grupės (vertinti parametrai – Albuminas, Bendrasis baltymas, Urėja, AST, GGT). Toliau, tyrimo metu palyginti TG ir KG pieno parametrai (atrajojimo trukmė, svoris, likusio pašaro kiekis, baltymų, riebalų kiekis, R/B, laktozės kiekis, SLS, elektrinis pieno laidumas, pieno temperatūra). Pieno parametrų duomenys lyginti 4 savaitių laikotarpyje – 2 savaitės iki mėginio paėmimo ir 2 savaitės po mėginio paėmimo.

Rezultatai. Biocheminiai kraujo rezultatai: Tiriamosios grupės AST koncentracijos mediana 78,4 U/L (min 65,6, max 226,5) buvo mažesnė už kontrolinės grupės mediana 102 (min 74,2,

max 275,9) šis skirtumas buvo statistiškai patikimas ($p=0,022$), (4 pav.). Tiek TG, tiek KG AST koncentracija išliko fiziologinių normų ribose (60 – 125 U/L). Albuminai, kurių TG vidurkis 34,65 g/dL buvo patikimai mažesnis už KG vidurkį – 38,63 g/dL, $p<0,003$. (3 pav.). Tiek tiriamosios, tiek kontrolinės grupės albuminai išliko fiziologinių normų ribose (28 – 40 g/dL).

Bandos valdymo programos fiksuojami pieno parametrai: Tiriamosios grupės atrajojimo trukmės mediana 544 min. (min 51, max 716) buvo mažesnė už kontrolinės grupės mediana 573 min. (min 251, max 716), skirtumas yra statistiškai patikimas, $p<0,001$. (5 pav.) Tiriamosios grupės nesuvalgyto pašaro likučio mediana 0,19 kg. (min 0,05, max 3,81) buvo didesnė už tiriamosios grupės medianą 0,15 kg. (min 0,05, max 4,53), skirtumas yra statistiškai patikimas, $p<0,005$. (6 pav.) Tiriamosios grupės baltymų kiekio piene mediana 3,5 proc. (min 2,62, max 4,04) buvo mažesnė už kontrolinės grupės mediana 3,73 proc. (min 3,27, max 4,43), šis skirtumas yra statistiškai patikimas, $p<0,001$. (7 pav.) Tiriamosios grupės riebalų kiekio vidurkis 5.25 proc. yra 26-iais proc. statistiškai patikimai didenis už kontrolinės grupės riebalų kiekio vidurkį 4.16 proc., $p<0,001$. (8 pav.) Tiriamosios grupės pieno riebalų ir baltymų santykio mediana 1,49 (min 0,91, max 2,73) buvo didesnė už kontrolinės grupės mediana 1,11 (min 0,87, max 1,35), šis skirtumas buvo statistiškai patikimas, $p<0,001$. (9 pav.) Tiriamosios grupės pieno temperatūros mediana 39,43°C (min 34,90, max 42,20) buvo didesnė už kontrolinės grupės mediana 39,2°C (min 37,55, max 40,25) skirtumas yra statistiškai patikimas, $p<0,001$. (10 pav.)

TG karvių susirgimai laikotarpyje tarp 2022 metų birželio iki 2022 metų lapkričio indikavo tik 10 proc. ketozės atvejų, didžioji dalis susirgimų buvo subklinikiniai mastitai – 30 proc. ir klinikiniai mastitai – 30 proc.. Remiantis visais tyrimo rezultatais galima teigti, kad pakilęs R/B indikuoja subklinikinę ketozę, tačiau svarbu atkreipti dėmesį ir į tešmens sveikatą, kadangi pakilęs R/B gali indikuoti ir pieno liaukos sutrikimus.

Raktažodžiai: karvės, ketozė, melžimo robotai, pieno riebalų ir baltymų santykis.

EVALUATION OF INCREASE OF FAT TO PROTEIN RATIO IN MILK AS AN INDICATOR OF KETOSIS RECORDED BY A CATTLE HERD MANAGEMENT SOFTWARE.

Ernestas Mickūnas

Master's thesis

SUMMARY

Objective and tasks. To find out and evaluate the value of the increase in the milk fat and protein ratio of fresh milk cows as an indicator of ketosis and to compare the biochemical parameters of the blood serum and herd management program parameters of the test group with the parameters of the control group of healthy cattle.

Materials and methods. The study group (TG) (n=13) was formed based on the health analysis of the "Time for cows" herd management program of "Lely Astronaut 3" (Lely, The Netherlands). Cows with increased F/P (>1.4) and with blood BHB (<1 mmol/L) were selected (the average blood BHB was 0.4 mmol/L, GLU – 3.1 mmol/L, F/P - 1.61). Control group (KG) (n=15) - cows selected on the principle of analogues: cows of the same lactation, similar productivity, similar days in lactation with normal F/P and normal blood Glu (2.5-3.5 mmol/L) and BHB (<1 mmol/L), (the average blood BHB was 0.5 mmol/L, GLU – 2.9 mmol/L, F/P – 1.11). After a cow was selected for the study group and an analogue was found, both cows were blood sampled on the same day. Samples were taken in vacuum tubes (BD Vacutainer, England). Blood samples were centrifuged to separate the blood serum from other blood parts, the serum was frozen, then the samples were analyzed and the results were compared between the study and control groups (evaluated parameters – Albumin, Total protein, Urea, AST, GGT). Next, during the study, TG and KG milk parameters were compared (rumination duration, weight, amount of remaining feed, protein, fat content, F/P, lactose content, SLS, electrical conductivity of milk, temperature of milk). The data of milk parameters were compared in a period of 4 weeks - 2 weeks before sampling and 2 weeks after sampling.

Results. Biochemical blood results: The median AST concentration of the study group 78.4 U/L (min 65.6, max 226.5) was lower than the median 102 (min 74.2, max 275.9) of the control group, this difference was statistically reliable ($p=0.022$), (Image 4). Both TG and KG AST concentration remained within physiological limits (60 - 125 U/L). Albumins with a TG mean of 34.65 g/dL was significantly lower than the KG mean of 38.63 g/dL, $p<0.003$. (Image 3). Albumin in both the study and control groups remained within physiological limits (28-40 g/dL).

Automatic milking system recorded milk parameters: The median rumination duration of the study group 544 minutes (min 51, max 716) was lower than the median of the control group 573 minutes (min 251, max 716), the difference is statistically reliable, $p<0.001$. (Image 5) The median leftover feed of the study group 0.19 kg (min 0.05, max 3.81) was higher than the median of the study group 0.15 kg (min 0.05, max 4.53), the difference is statistically reliable, $p<0.005$. (Image 6) The median 3.5 proc. (min 2.62, max 4.04) protein content in milk of the study group was lower than the median 3.73 proc. (min 3.27, max 4.43) of the control group, this difference is statistically reliable, $p<0.001$. (Image 7) The average fat content of the study group, 5.25 proc., is 26 proc. statistically significantly higher than the average fat content of the control group, 4.16 proc., $p<0.001$. (Image 8) The median milk fat to protein ratio of the study group 1.49 (min 0.91, max 2.73) was higher than the median 1.11 (min 0.87, max 1.35) of the control group, this difference was statistically significant, $p<0.001$. (Image 9) The median milk temperature of the study group was 39.43 °C (min 34.90, max 42.20) higher than the median of the control group 39.2 °C (min 37.55, max 40.25) the difference is statistically significant, $p<0.001$. (Image 10)

Diseases in TG cows in the period between June 2022 and November 2022 indicated only 10 proc. cases of ketosis, the majority of cases were subclinical mastitis – 30 proc. and clinical mastitis – 30 proc. Based on all the results of the study, it can be said that an elevated F/P indicates subclinical ketosis, but it is important to pay attention to health of the udder, since an elevated F/P can also indicate disorders of the mammary gland.

Keywords: dairy cattle, ketosis, automatic milking system, milk fat to protein ratio.

SANTRUMPOS

BHB – β hidroksibutiratai

n – karvių skaičius

NEB – neigiamas energijos balansas

p – patikimumas, kai $p \leq 0,05$.

KG – kontrolinė grupė

TG – tiriamoji grupė

R/B – pieno riebalų ir baltymų santykis

GLU - gliukozė

AMS - automatinės melžimo sistemos

pav. - paveikslėlis

pvz. – pavyzdžiui

SLS – somatinės ląstelės

F/P – fat to protein ratio

IVADAS

Moderniuose ūkiuose gausiai paplitę melžimo robotai ir bandos valdymo programos atlieka daug svarbių funkcijų padedančių palaikyti sveikus gyvūnus ir aukštą produkciją. Viena šių funkcijų - ūkyje melžimo robotai atlieka pieno tyrimus nustatančius pieno riebalų ir baltymų santykį arba ketonines medžiagas pieno sudėtyje. Tačiau tyrimai ne visada yra tikslūs, kartais aptinkamos paklaidos, kai ūkyje įdiegta bandos valdymo programa indikuoja apie specifinio galvijo susirgimą ketoze, bet ištyrus kraujyje esančius BHB nerandame nei subklinikinės nei klinikinės ketozės išraiškos. Tokios, arba panašaus tipo problemos yra bandomos spręsti ir kitose šalyse. (36)

Automatinės melžimo sistemos fiksuoja gausius kiekius informacijos ir dažnai yra susietos su įvairaus tipo davikliais galinčiais stebėti galvijų aktyvumą, rują, didžiojo prieskrandžio veiklą ir t.t. Šių daviklių surinkta informacija analizuojama ir pateikiama bandos valdymo programose, kaip įvairūs pranešimai ar įspėjimai padedantys ūkininkams geriau prižiūrėti pieninius galvijus, laiku pastebėti ligas ar kitas problemas. Nors melžimo robotai nėra naujiena ūkiuose, tačiau dažnai pasitaiko, kad programose pateikiamuose sveikatos pranešimuose pasitaiko klaidų, kurios dažnai netiriamos dėl patentų ar komercinių tikslų. 2017 metais Kanadoje buvo atlikti tyrimai įvertinti įvairius bandos valdymo programų duomenų nukrypimus, nustatyta, kad palyginus su mastitų ir metritų aptikimo duomenimis, ketozės bei šliužo dislokacijos duomenų tikslumas buvo žymiai patikimesnis, tačiau tyrimo autoriai teigia, kad šiai problemai reikia daugiau nagrinėjimo ūkiuose su automatinėmis melžimo sistemomis. (29)

Su panašia problema susidūrė Lefebvre et al. (28) 2018 metais tirdamas „Lely“ automatinių melžimo sistemų daviklius jautrius pieno riebalų ir baltymų santykiui ir lygindamas rezultatus su laboratorijoje atliktais tyrimais. Gauti vidurkių skirtumai tarp „Lely“ automatinių melžimo sistemų ir laboratorijos rezultatų buvo maži $-0,05 \pm 0,5\%$ ir $-0,001 \pm 0,23\%$, tačiau vidutinis absoliutusias nuokrypis buvo didesnis 0,38 ir 0,18%. Pagal šiuos duomenis įrodyta, kad laboratorijoje gauti rezultatai atspindi tikslesnį statistinį modelį su mažesne variacija ir mažiau kraštutinių verčių.

Darbo tikslas: Palyginti pieninių galvijų, kuriems bandos valdymo programa aptiko padidėjusį pieno riebalų ir baltymų santykį, tačiau greitieji kraujo tyrimai neindikuoja padidėjusios

ketoninių kūnų koncentracijos, kraujo biocheminių rodiklių pokyčius, pieno rodiklių pokyčius su sveikais galvijais neturinčiais padidėjusio pieno riebalų baltymų santykio.

Darbo uždaviniai:

1. Įvertinti šių grupių ligų pasireiškimą.
2. Palyginti šių grupių kraujo biocheminių parametrų rezultatus.
3. Palyginti šių grupių bandos valdymo programos registruojamų parametrų rezultatus.
4. Įvertinti ir apibendrinti gautus rezultatus.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 Automatinės melžimo sistemos

Automatinės melžimo sistemos (AMS) yra jau nusistovėjusi pieninių galvijų ūkių norma Europoje. AMS populiarus sprendimas šalyse, kuriose vyrauja aukštos produkcijos galvijai, aukštos pieno kainos ir brangiai apmokamas darbas. (38) AMS suteikia galimybes melžti karves dažniau nei du kartus per dieną ar pagal sudarytą programą atsižvelgiant į laktacijos skaičių neišleidžiant papildomų išteklių darbuotojų užmokesčiui. Taip pat, melžimo procesas yra pastovesnis ir nebeprislauso nuo melžėjo sugebėjimų, karvės patiria mažiau streso nes kiekvienas melžimas vyksta identiška. (37) Tinkamai prižiūrimose melžimo sistemose gaunamas gerokai gausesnis pieno kiekis, palaikomas sveikesnis karvės tešmuo, atsiranda galimybė stebėti pieno kokybę ir sudėti pasitelkiant bandos valdymo programas.

„Lely“ (Lely, Nyderlandai) kiekvienais metais atranda vis naujų daviklių pritaikytų AMS. Pavyzdžiui, jutikliai, kurie matuoja atrajojimo laiką, aktyvumą, atrajojimo minutes, maisto likutį ir karvės svorį. Šie salyginai nauji informacijos šaltiniai didina ligų aptikimo galimybes. Ketoze ar metritu sergančių karvių pieno primilžis sumažėja, trumpėja atrajojimo laikas ir karvių aktyvumas. Taip pat buvo nustatyta, kad karvės su ligomis po apsiveršavimo (pvz., ketoze ir metritas) į AMS lankosi rečiau, sumažėja kūno svoris ir krenta pieno primilžis. (13) (51) Todėl, naudojant naujus jutiklius, po apsiveršavimo ligas dabar galima nustatyti ir AMS. (39) 2016 m. Lely pristatė sveikatos ataskaitą Time for Cows, T4C. (16) Sveikatos ataskaita leidžia ūkininkui ar veterinarijos gydytojui nustatyti ne tik mastitą, bet ir daugiau ligų AMS. Ataskaitoje sujungiami visi jutiklių duomenys ir apskaičiuojama ligos tikimybė specifinei karvei. Kuo aukštesnė ligos tikimybė, tuo didesnė tikimybė, kad karvė susirgs. Tokiu būdu atsiranda galimybės aptikti ligą ankstyvoje stadijoje. Ankstyvas ir tinkamas gydymas pagerina sveikimo procesą ir gali užkirsti kelią susirgti kitoms karvėms. (36)

1.2 Ketoze

Ketoze ir subklinikinė ketoze yra dažna šių laikų aukšto pieningumo karvių metabolinė liga, kuri yra siejama su daug kitų šviežiapienių karvių ligų. Pereinamasis laikotarpis (apibrėžiamas kaip 3 savaitės iki veršiovimosi ir 3 savaitės po veršiovoms) yra rizikingas laikotarpis pieninei karvei. (14) Šiuo laikotarpiu karvės organizmas prisitaiko dalį energijos skirti

pieno sintezei. Energijos kiekio poreikis ir energijos kiekio įsisavinimas su pašaru sudaro neigiamą energijos balansą, (19) dėl kurio išsivysto metaboliniai sutrikimai, tokie kaip – hiperketonemija. Veršiavimosi periodu nuo 30 iki 50 proc. karvių pradeda sirgti metabolinėmis ligomis, tarp jų ir ketoze. Karvės sergančios subklinicine ketozės forma (BHB koncentracija 1 – 1,4 mmol/l) turi didesnę šansą susirgti šliužo dislokacija, metritu, klinicine ketoze ar šlubavimu. Taip pat ketozė mažina pieno kiekį, reprodukcines galimybes ir didina priešlaikinio skerdimo tikimybę. 2010 metais atliktame tyrime Olandijoje buvo nustatyta, kad tiriamuose ūkiuose net 47,2 proc. karvių serga subklinicine ketozės forma, o 11,6 proc. klinicine ketoze. (2)

Klinikiniams ketozės simptomams priskiriamas apetito netekimas, jaučiamas acetono kvapas šlapime, karvės burnos ertmėje, taip pat pastebimas pieno produkcijos sumažėjimas, reprodukcinių galimybių sumažėjimas ir gretutinių ligų pasireiškimas. (13)

1.2.1 Ketozės patogenezė

Ketozė tai metabolinė liga, kai ankstyvojoje laktacijoje piene, kraujyje, šlapime kaupiasi ketoniniai kūnai (beta – hidroksibutiratai, acetoacetatai, acetonas). Ketoniniai kūnai patenka ekzogeniškai su pašaru arba endogeniškai iš riebalinių audinių. Populiariausia teorija ketonų susidarymui – neigiamas energijos balansas ankstyvojoje laktacijoje. Esant NEB, karvės kepenys pradeda skaidyti kūno riebalus kaip papildomą energijos šaltinį. Šio proceso metu kepenyse iš riebalų rūgščių susidaro acetyl-CoA, kurio, perteklinio kiekio dalis nesunaudota krebso ciklo metu virsta ketoniniais kūnais. (20) Karvei apsiveršius susidaro pašaro sausosios medžiagos ir energijos sunaudojamos pieno sintezei disbalansas. (19) Dėl karvės organizme vykstančios trigliceridų lipolizės į kraują išsiskiria daug laisvųjų riebalų rūgščių, kepenys nesugeba jų visų oksiduoti, susidaro dalinai oksiduotos riebalų rūgštys- ketoniniai kūnai. Aukšta ketoninių kūnų koncentracija mažina karvių apetitą, dėl sumažėjusio pašaro suvartojimo dar labiau didėja NEB, silpsta imunitetas ir tokiu būdu karvė tampa imlesnė kitoms ligoms, taip pat krenta pieno produkcija. (3)

1.2.2 Ketozės rizikos veiksniai

Ketozės atsiradimą gali lemti skirtingi veiksniai. Vienas iš jų aukštas KMI ir žemas sausosios pašaro medžiagos suvartojimas pereinamuoju laikotarpiu. Kitas svarbus veiksnys - nustatyta, kad gausėnis krekėnų melžimas didina šansą klinicinei ir subklinicinei ketozei. Vienas didžiausių veiksnių lemiantis ketoninių kūnų pagausėjimą pieninės karvės organizme tai staigus pašaro pakeitimas. Įtakos turėjo laktacijos periodas – ankstyvesniuose perioduose ketonų

koncentracija buvo didesnė nei velyvesniuose. (13) Ilgesnis užtraukimo laikotarpis didina riziką tiek subklinicinei, tiek ir klinicinei ketozės formoms nes per šį laikotarpį karvė beveik visada priauga daugiau svorio, ko pasekoje vyksta didesnė medžiagų mobilizacija prieš veršivimąsi. (21) Ilgesnė laktacija, taip pat turi įtakos ketozės pasireiškimui, karvės priauga daugiau svorio, didėja KMI, nes laktacijos pabaigoje energijos poreikis mažėja, tačiau pašaras daugumoje ūkių nesikeičia. (2) Subklinikinė ketozė pagrįdė pasireiškia aukštos produkcijos karvėms, kurios šeriamos jų fiziologinių poreikių neatitinkančiu pašaru ir ankstyvos laktacijos karvėms. (12), (13) Atliktame tyrime 2005 metais Nielsen et al. (18) nustatė, kad karvės sirgusios ketoze pirmos laktacijos metu turi 17 proc. didesnę riziką susirgti ketoze vėlesnėse laktacijose.

1.2.3 Ketozės klasifikacija

Ketozė yra skirstoma pagal BHB koncentraciją kraujyje ir esamus arba nesamus klinikinius požymius. Esant subklinicinei ketozės formai ketoninių kūnų randama kraujyje, piene, šlapime, tačiau akivaizdžių klinikinių simptomų nepastebima arba jų nėra, pašaro suvartojimas nesumažėjęs. (3) Būdingas požymis leidžiantis įtarti subklinikinę ketozę - pieno kiekio kritimas. (23) BHB koncentracija kraujo serume 1,2 - 1,4 mmol/l. (4) Karvės sergančios subklinicine ketoze turi didesnę riziką susirgti gretutinėmis ligomis: šliužo dislokacija, metritu, endometritu, mastitu, šlubavimu, nuovalų užsilaikymu, kiaušidžių cistomis, nevaisingumu ar sumažėjusiomis reprodukcinėmis savybėmis. (3) Klinikinė ketozės forma pasireiškia hiperketonemija, hipoglikemija ir klinikiniais ligos simptomais - sumažėjusiu apetitu, duodamo pieno kiekio sumažėjimu, svorio kritimu, sausomis išmatomis. Būdinga depresijos išraiška, sukaustytas žvilgsnis. Liga dažniausiai pasireiškia šviežiapienėms karvėms 1 - 3 laktacijos savaitę. (22) BHB koncentracija kraujo serume 2,5 – 3 mmol/l. (4) Retaus klinikinės ketozės išraiška - nervinė forma. Jai būdingi visi klinikinės ketozės simptomai ir išreiškiamas nebūdingas elgesys – gausus laižymasis, vaikščiojimas ratais, apakimas, padidėjęs seilėtekis ar net agresija. (22) Tiek klinikinės, tiek subklinikinės ligos formos atveju pieno riebalų koncentracija didėja, o baltymų kiekis mažėja. (3)

1.3 Svarbūs rodikliai nustatant ketozę

Šių laikų moderni pieno produkcija sukelia didelį krūvį karvių organizmui, ko pasekoje melžiamos karvės neretai suserga metabolinėmis ligomis. Norint geriau numatyti ir išvengti susirgimų svarbu žinoti ir suprasti biocheminius kraujo parametrus, kurie galėtų indikuoti metaboline ligas. Laktacijos periodas ženkliai paveikia karvių kraujo parametrus dėl sunaudojamos papildomos energijos pieno sintezei. (6) Ketozės nustatymui gali būti tiriami kraujo bei pieno parametrai laboratorijoje ar ūkyje. Kraujo parametrus galima vertinti greitaisiais testais naudojant rankinius matuoklius ir specifines vienkartinės diagnostines juosteles. (25) Taip pat, kraujo mėginius galima tirti laboratorijoje, ultravioletiniu spektrometru ar biocheminiu analizatoriumi tiriant kraujo serumo BHB. Pieno rodikliai, tokie kaip pieno riebalų ir baltymų santykis ar pieno ketoniniai kūnai vertinami ūkiuose pasitelkiant melžimo robotų ir bandos valdymo programų duomenis. (24)

1.3.1 Biocheminiai kraujo rodikliai

Klinikinė biochemija gali būti naudinga ūkinių gyvūnų praktikoje, ne tik diagnostikos tikslais atskiriems gyvūnams, bet ir įprastiems bandos ar pulko tyrimams bei stebėjimams. Pavyzdžiui, albumino ir globulino koncentracijos gali pasitarnauti kaip palyginti pigus metodus tiriant ūmių ir lėtinių ligų procesus, taip pat krekenų suvartojimo įvertinimui. Kepenų fermentų vertinimas gali būti naudingas įtariant subklinikinius susirgimus. Teisingas biocheminių kraujo parametrų interpretavimas yra svarbi pieninių galvijų ūkio valdymo dalis. (50)

1.3.1.1 Hepatocitų ir kitų audinių ląstelių fermentai

Aminotransferazės yra svarbūs kraujo rodikliai, nes tiesiogiai veikia amino rūgščių ir angliavandenių apykaitą, taigi jų aktyvumo padidėjimas gali reikšti ląstelių aktyvumo augimą (pagrindė kepenyse) arba ląstelių struktūros pažeidimus. (7) Didelė laisvųjų riebalų rūgščių koncentracija pažeidžia kepenis, kraujo serume tai atspindi rodikliai AST, ALT, GGT, o aspartato aminotransferazė indikuoja mitochondrijų pažeidimą. (4) AST randamas ląstelių citoplazmoje arba hepatocitų mitochondrijose, širdyje ir skeleto miocituose. Suriebėjus kepenims padidėja ląstelių membranų pralaidumas, fermentai patenka į kraujotaką, padidėja jų aktyvumas. AST nurodo kepenų lipidų susikaupimą, todėl yra svarbus biožymuo nustatant suriebėjusias kepenis. (5) AST aktyvus kepenyse, šio biožymens aptikimas kraujotakoje signalizuoja ūmius ir lėtinius kepenų pažeidimus, taip pat randamas inkstuose, kasoje, skeleto raumenyse. (55)

Dažniausiai siejamas su hepatocitų pažeidimais, todėl radus AST kraujo serume galima stebėti kepenų ligos eigą. (5) AST aktyvumas didėja laktacijos pradžioje ir palaipsniui mažėja. (7) Atlikto kraujo biocheminių rodiklių tyrime CHEN Y et al. (12) 2019 metais nustatė sveikų karvių fiziologines AST ribas - 58.76 ± 31.63 U/L ir karvių sergančių ketoze – 65.44 ± 54.38 U/L, $p < 0,05$. Alanino aminotransferazė (ALT) yra kepenų ląstelių membranos pažeidimo lygio indikatorius (4) ALT koncentracija karvių kraujyje skiriasi priklausomai nuo produkcinio periodo. Ankstyvosios laktacijos metu ALT koncentracija yra žemiausia, antrame ir trečiame laktacijos periode didesnė, užtraukimo laikotarpiu koncentracija vėl mažėja. (7) Sveikų karvių fiziologinė norma $20,56 \pm 1,41$ U/L, o sergančių ketoze $22,22 \pm 5,52$ U/L, $p < 0,01$. (4) Pakilusi y – gliutamil transpeptidazė (GGT) nurodo oksidacinį stresą kepenyse ir padidėjusią gliukozės toleranciją. (4) GGT aktyvumas didėja pirmą savaitę po veršiavimosi, taip pat 6 savaitės po atsivedimo. (7) Sveikų karvių kraujo serume GGT $6 - 17,4$ U/L, $p < 0,001$ (8), sergančių ketoze - 42.09 ± 18.14 U/L, $p < 0,001$. (7)

1.3.1.2 Urėja

Urėja susidaro kepenyse ir iš inkstų kartu su šlapimu yra pašalinama iš organizmo. Kepenys urėją sintetina iš amoniako, kuris susidaro skylant amino rūgštims didžiajame prieskrandyje. (33) Urėjos koncentracija kraujyje gali pakilti nuo tam tikrų pašarų, gyvūno dehidratacijos ar esant inkstų funkcijos sutrikimui. (6) Sveiko galvijo urėjos koncentracija kraujyje svyruoja nuo 3 iki 7,6 mmol/L. Atlikto tyrimo metu 2008 metais Yameogo et al. (27) nustatė, kad 37,8 proc. karvių sergančių subklinicine ketoze ir 67,1 proc. karvių sergančių klinicine ketoze urėja kraujyje viršijo aukštos produkcijos pieninių galvijų viršutinę urėjos normą - 7,6 mmol/L, $p < 0,05$.

1.3.1.3 Bendrasis baltymas

Bendras kraujo serumo baltymas yra vienas iš pieninių galvijų sveikatos būklės rodiklių. (42) Bendra baltymų koncentracija kraujyje analizuojama kaip albuminas ir visi likę baltymai, o globulinų koncentracija gaunama iš bendro baltymo ir albuminų skirtumo. Biocheminiai kraujo baltymų analizės rezultatai geriausiai interpretuojami atsižvelgiant į jų koncentracijas individualiai ir iš viso. (6) Bendro baltymų kiekio sumažėjimą galima paaiškinti kaip ankstyvos laktacijos išraišką, kai karvės organizmas nukreipia albuminus ir globulinas iš kraujo į tešmenį. (10), (41) Bendro baltymo koncentracijos pakilimas gali indikuoti dehidrataciją, o globulinų pakilimas indikuotą uždegiminį procesą organizme. Organizmui stresą keliančios sąlygos, pvz.,

neigiamas energijos balansas ankstyvos laktacijos metu, gali pakeisti metabolinę būseną ir paveikti imuninę sistemą, sukeldamos bendro baltymo ir albuminų koncentracijos padidėjimą. Ketoze sergančių karvių hipoproteinemija atsiranda dėl distrofinių procesų ir riebalų infiltracijos į kepenis ir inkstus. (42) Bendrojo baltymo koncentracija sveikos karvės organizme svyruoja tarp, 76.2 ± 2.19 g/L, o karvių sergančių ketoze - 88.4 ± 1.42 g/L, $p < 0.001$. (40)

1.3.1.4 Albuminas

Albuminas yra gausiausias plazmos baltymas ir yra gaminamas tik kepenyse. Albuminas yra pagrindinis už transportavimą atsakingas baltymas ir pagrindinis plazmos osmosinio slėgio reguliatorius. Jis sulaiko vandenį ir dalyvauja pernešant bilirubiną, riebalų rūgštis, hormonus ir vitaminus. (41) Albuminas, taip pat skaidomas pagrinde kepenyse. Įprastai, jo gamyba ir skaidymas yra tolygus vienas kitam, bet pasireiškus hipoalbuminemijai balansas gali sutrikti jei yra sunkus hepatocitų pažeidimas arba dėl sumažėjusios inkstų funkcijos, kurią sukėlė glomerulų liga. (6) Albumino vertės sveikų galvijų svyruoja tarp 37.0 ± 2.69 g/L, o galvijų sergančių ketoze - 25.6 ± 1.66 g/L, $p < 0.01$. (40) Baltymų metabolizmas kepenyse karvių su subklinicine ir klinicine ketoze yra sutrikęs, tai atspindi statistiškai reikšmingas mažesnis serumo bendras baltymų ir albuminų kiekis, $p < 0,001$. (41)

1.3.2 Greitieji kraujo tyrimai

Karvių ketonams kraujyje, gliukozei nustatyti dažniausiai naudojami greitieji testai pasitelkiant gyvūnams pritaikytus veterinarinius insulino kraujyje matuoklius (AlphaTrak2, GlucoPet). (26) Tai lengvai atliekamas testas įstatant juostelę specifiskai jautrią kraujo ketonams arba gliukozei, tada užlašinamas kraujo lašas, paimtas su adata įdurus į kapiliarines kraujagysles karvės ausyje. (14) Konkol et al. (17) 2008 metais atlikto tyrimo metu nustatė 14% ketozės paplitimą bandoje naudojant Precision Xtra ketonų matuoklį, $p < 0,001$.

1.3.2.1 Gliukozė

Kraujyje randamas gliukozės kiekis atspindi mitybos ypatumus, hormonų veiklą, gliukozės metabolizmą. (1), (34) Atrajotojai iš žarnose vykstančio virškinimo gliukozės įsisavina nedaug, todėl gliukozės kiekis kraujyje pagrinde nurodo kepenų funkcijos veiklą. Taip pat gliukozės kiekis kraujyje leidžia įvertinti galvijo energijos balansą. (10) Per dieną tam, kad palaikytų optimalias gyvybines funkcijas karvė su pašaru turėtų gauti ne mažiau 0,5 kg grynos gliukozės ir 0,05 kg gliukozės kiekvienam litrai pieno. (13) Gliukozės koncentracija kraujyje gan lengvai paveikiama streso, esant ligoms po veršiavimosi ar esant viškinimo sistemos sutrikimų.

(6) Fiziologinė norma 2,5 – 3,5 mmol/L. (1) Atlikusi tyrimą Yang et al. (4) 2019 metais nustatė, kad sveikų karvių gliukozės kiekis kraujo plazmoje buvo $4,23 \pm 0,58$ mmol/L, o karvių sergančių ketoze – $2,74 \pm 0,51$ mmol/L, $p < 0,01$.

1.3.2.2 Beta-hidroksibutiratai

Beta – hidroksibutiratai – tai acetoninės medžiagos susidarantios riebalų metabolizmo metu. BHB randami tiek kraujyje, tiek šlapime ar piene ir yra stabiliausi tarp acetoninių medžiagų, dėl ko ir yra plačiai naudojami ketozių diagnostikai. (35) Riebalai kaip energijos šaltinis yra naudojami esant NEB ankstyvojoje laktacijoje. Po veršiavimosi karvės organizme didėjant energijos poreikiui daugėja BHB, acetoacetatų ir acetonų, atsiradusi hiperketonemija didina tikimybę susirgti klinicine ketoze. BHB koncentracijos nustatymas kraujyje laikomas „auksiniu standartu“ nustatant klinikinę ar subklinikinę ketozę, taip pat šiuolaikiniai melžimo robotai matuoja BHB koncentraciją melžiamų karvių piene. Iki veršiavimosi sveiko gyvūno BHB koncentracija būna apie 0,56 – 0,75 mmol/L, sergančio subklinicine ketozės forma nuo 1 – 1,2 mmol/L, klinicine ketoze nuo 2,6 mmol/L. (9), (13) BHB koncentracija karvės organizme atspindi jos sveikatos būklę. Karvės, kurių kraujyje BHB $> 1,2$ mmol/L sumažėja suvartojamo pašaro kiekis, krenta pieno produkcija, prastai prisipildo didysis prieskrandis, sparčiai krenta svoris, taip pat galimos nervinės išraiškos. (35)

1.3.3 Pieno rodikliai

Pieninkystės ūkiai keičiasi - daugėja melžiamų karvių, sparčiai auga bandos dydžiai, todėl ūkininkai norėdami tinkamai prižiūrėti gyvūnus ir išlaikyti aukštą pieno produktyvumą naudoja bandos valdymo programas ir automatines melžimo robotų sistemas. Šios sistemos automatiškai ima ir tiria pieno mėginius, nustato ligas ar jų tikimybę, vertina specifinių karvių produktyvumą, atskiria sergančių karvių pieną nuo sveikų karvių pieno. (15), (16) Melžimo sistemos tiria specifinius rodiklius, tokius kaip BHB piene (15), pieno riebalų ir baltymų santykį. (16) Šie rodikliai leidžia pastebėti ligas jų ankstyviausioje stadijoje ar net prieš pasireiškiant, taip pat ir klinikinę ir subklinikinę ketozės formas.

1.3.3.1 Pieno riebalų ir baltymų santykis

Vertinant karvės metabolizmą svarbu atkreipti dėmesį į pieno riebalų ir baltymų santykį: optimalus R/B santykis 1,2 – 1,4. (14) Žemesnis santykis gali indikuoti subklinikinę didžiojo prieskrandžio acidozę, kuri didina grėsmę karvei susirgti metabolizmo ligomis, taip pat

neigiamai veikia karvės reprodukcines savybes. Santykis aukštesnis nei 1,4 nurodo NEB ir indikuoja apie esamus ketoninius kūnus - subklinikinę ketozę. Apie 90 proc. ketozės atvejų karvė susergera per 60 dienų po veršiavimosi, vėlesnių laktacijų gyvūnai turi didesnę šansą susirgti, taip pat didesnis šansas išsivystyti gretutinėms ligoms. (11), (31)

R/B santykis taip pat svarbus dėl to, kad aukšti santykiai, tokie kaip $1,5 <$ indikuoja 1,5 karto didesnę tikimybę sirgti mastitu, 7,5 karto didesnę tikimybę šlubuoti, 3,5 didesnę tikimybę sirgti klinicine ketoze. Aukštesnis R/B santykis piene leidžia suprasti, kad vyksta nesočiųjų riebalų rūgščių mobilizacija, dažniausiai laktacijos pradžioje, kuomet yra didžiausias NEB. (11)

Svarbu atkreipti dėmesį į tai, kad padidėjęs pieno riebalų ir baltymų santykis gali indikuoti ne tik apie ketozę ir jos formas, tačiau ir apie kitas šviežiapienių karvių ligas. Nustatyta, kad pirmąjį mėnesį po veršiavimosi karvės kurių $R/B > 1,5$ turėjo didesnę šansą susirgti šliužo dislokacija, kiaušidžių cistomis, mastitu, taip pat buvo labiau linkusios į šlubavimą, (32) (30) o karvėms kurių $R/B > 2,0$ pasitaikė daugiau nuovalų užsilaikymų, šliužo dislokacijų į kairę, metritų ir endometritų ir priešlaikinių skerdimų. (30)

1.3.3.2 Pieno ketoninių medžiagų diagnostika pasitelkiant melžimo robotus

Automatinis ligų stebėjimas tampa vis aktualesnis dėl spartaus pieninių ūkių augimo ir greito pieninių galvijų gausėjimo, bandų didėjimo ir didesnio gyvūnų skaičiaus tenkančio vienam žmogui prižiūrėti. Nauji ir dideli ūkiai naudoja automatines melžimo sistemas ir bandos valdymo programas, kurių dėka galima lengviau kontroliuoti gyvulių šėrimą, melžimą, atlikti ankstyvąją ligų kontrolę. Ketozę išsivysto per kelias dienas ar net savaites, dėl to ligą galima pastebėti subklinikinėje arba ankstyvojoje stadijoje pasitelkiant ūkiam pritaikytas technologijas. Sistemos stebinčios karvių sveikatą gali nustatyti išmelžto pieno sudėtį, aptikti ketonines medžiagas - acetoną, acetoacetatą ir BHB. Dėl savo stabilumo, siekiant tikslesnių analitinių rezultatų tiriama tik BHB. (18) Sistema veikia dvejais etapais: matuojamas BHB kaip rizikos faktorius, tada papildomi kintamieji įvertinami dėl papildomų rizikos veiksnių nustatant ligą. Šių etapų kombinacija sudaro ketozės rizikos dydį. Priklausomai nuo nustatytos rizikos dydžio karvės pieno mėginiai gali būti tiriami dažniau arba rečiau. BHB kaip rizikos veiksnys nustatomas prieš tai programai įvertinus BHB normą individualiai karvei pagal laktacijos dieną. Papildomi rizikos faktoriai įvertina platesnį spektrą ligos pasireiškimo tikimybių, tačiau kiekvienas papildomas faktorius didina tikslumo paklaidą, atsiranda klaidingai teigiami ir klaidingai neigiami

duomenys. Duomenų tikslumą galima patikrinti imant galvijo kraujo mėginį, kuris bus tiriamas laboratorijoje. (18)

2. TYRIMO METODAI IR MEDŽIAGA

Tyrimo vieta, tikslas. Tyrimas atliktas 2022 metų birželio - lapkričio mėnesių laikotarpyje pieninių galvijų ūkyje Lietuvoje. Tiriamame ūkyje laikoma 1000 melžiamų karvių, kurios tvartuose laikomos palaidai, išskirstytos į grupes pagal laktacijos dienas, laktacijų skaičių ir produktyvumą. Karvių melžimą ūkyje atlieka automatinės melžimo sistemos „Lely Astronaut 3“ (Lely, Nyderlandai). Pagal laktacijos stadijas galvijai gauna subalansuotą mitybos racioną. Ūkyje idiegta bandos valdymo programa „Lely Astronaut“. Programa fiksuoja pakitimus piene, kuriuos stebint galima lengviau nustatyti melžiamų galvijų ketozę ir jos subklinikinę formą. „Lely“ vertina pieno riebalų ir baltymų santykį. Tačiau pasitaiko, kad programose užfiksuoti ketozės rodikliai, pagrinde padidėjęs riebalų baltymų santykis (fiziologinė norma - $>1,2$, $<1,4$), neatitinka „auksinio standarto“ ketozės diagnostikoje rezultatų - kraujyje randamo padidėjusios BHB koncentracijos (fiziologinė norma <1 mmol/L). Tyrimo tikslas - įvertinti kraujo serumo (vertinti parametrai – Albuminas, Bendrasis baltymas, Urėja, AST, GGT) ir melžimo robotų surinktus pieno parametrų (vertinti parametrai - laktacijos diena, atrajojimo trukmė, svoris, likusio pašaro kiekis, baltymų, riebalų kiekis, R/B, laktozės kiekis, SLS, elektrinis pieno laidumas, pieno temperatūra) pakitimus 4 savaitių laikotarpyje (2 savaitės iki kraujo mėginio paėmimo ir dvi savaitės po kraujo mėginio paėmimo), kurie galimai lėmė momentinį programų aptiktą pieno riebalų ir baltymų santykio pakilimą.

Mėginių paėmimas. Mėginiai imti fiksuotiem galvijam, dėvint vienkartinę pirštines, viena ranka pakeliama uodega, kita – aseptizuojama dūrio vietoje, tarp trečio ir ketvirtos slankstelio ventralinėje uodegos dalyje, kraujas imamas iš *v.coccygea*. Kartu su adatos laikikliu statmenai įvedama adata į griovelį tarp slankstelių, įstatomas mėgintuvėlis su kraujo krešėjimą skatinančiomis medžiagomis (*BD Vacutainer Serum*).

Tiriamoji medžiaga. Galvijų kraujo serumas, tiriami rodikliai: Urėja, AST, GGT, Bendras baltymas, Albuminai.

Tyrimo eiga. Iš viso į tyrimą buvo įtraukta 30 karvių. Tiriamoji grupė (n=15), tyrimo atlikimo metu 2 karvės išbrokuotos dėl traumų, (TG n=13) kontrolinė grupė (n=15).

Tiriamos karvės buvo atrinktos, kai bandos valdymo programos sveikatos ataskaita joms nustatė padidėjusį riebalų ir baltymų santykį piene ($R/B \geq 1,4$), o atlikus ketoninių kūnų tyrimą su rankiniu matuokliu (Precision Xtra™ blood glucose and ketone monitoring system) BHB buvo normos ribose (<1 mmol/L), gliukozė, taip pat normos ribose (2,5 – 3,5 mmol/L). Tuomet pasitelkiant bandos valdymo programos duomenis, tiriamajai karvei buvo ieškomas atitikmuo, kuri bus įtraukiama į kontrolinę grupę. Karvių atitikmenys atrinkti pagal:

1. Laktacijos skaičių, laktacijos dieną, pieno kiekį duodamą tą dieną ir numatomą laktacijos pieno kiekį
2. Karvė turi būti sveika pagal galvijų bandos valdymo programos pieno rodiklius – nėra mastito indikacijų
3. Jos pieno riebalų baltymų santykis turi būti normos ribose
4. Kraujo gliukozės (2,5 – 3,5 mmol/L) ir BHB koncentracijos (<1 mmol/L) normos ribose.

Siekiant tikslesnių rezultatų, tiriamajai ir kontrolinei karvių porai kraujo mėginiai imti tą pačią dieną. Rankiniu matuokliu (Precision Xtra™ blood glucose and ketone monitoring system) naudojant vienkartinės juostelės (specifiškai jautrias BHB arba gliukozei) paimtas kraujo lašas iš *v.coccygea*, ištirta BHB ir gliukozė. Tiek gliukozė, tiek BHB pagal tyrimo modelį turėjo būti normos ribose (BHB <1 mmol/L, Glu 2,5 – 3,5 mmol/L). Kraujo mėginiai biocheminiam tyrimui imti į vakuuminius mėgintuvėlius (BD Vacutainer, Anglija), ant mėgintuvėlių sužymėti karvių identifikavimo numeriai (ausies įsago nr., kaklo diržo nr.), mėgintuvėliai sudėti į atskiras dėžutes ir specialiu transportavimo krepšiu pristatyti į LSMU Veterinarijos Akademijos Gyvūnų Reprodukcijos tyrimų laboratoriją.

Surinkus visus mėginius, tiek kontroliniams, tiek tiriamiesiems mėginiams atlikti kraujo serumo biocheminiai tyrimai. Ištirta AST, GGT, Bendrasis baltymas, Albuminai, Urėja.

Vėliau, buvo atrinkta visų tirtų karvių ligos istorija pasitelkiant „Lely Astronaut“ Time for cows sveikatos ataskaitos funkcijomis. Palyginti TG ir KG karvių susirgimai 2 savaitės iki kraujo mėginio paėmimo ir dvi savaitės po paėmimo. Šiuo laikotarpiu buvo registruojami abiejų

grupių realūs susirgimai, kai karvės pakartotinai patekdavo į sveikatingumo ataskaitą. Šiom karvėm buvo atlikti išsamūs klinikiniai tyrimai ir nustatyta tiksli diagnozė.

Tarpusavyje lyginti TG ir KG rodikliai – laktacijos diena, atrajojimo trukmė, svoris, likusio pašaro kiekis, baltymų, riebalų kiekis, R/B, laktozės kiekis, SLS, elektrinis pieno laidumas, pieno temperatūra.

Statistinių duomenų analizė. Duomenys apdoroti naudojant socialinių mokslų paketą statistikai SPSS 27.0. Rezultatai pateikti kaip vidurkiai su standartiniais nuokrypiais arba kaip medianos su min ir max reikšmėmis.

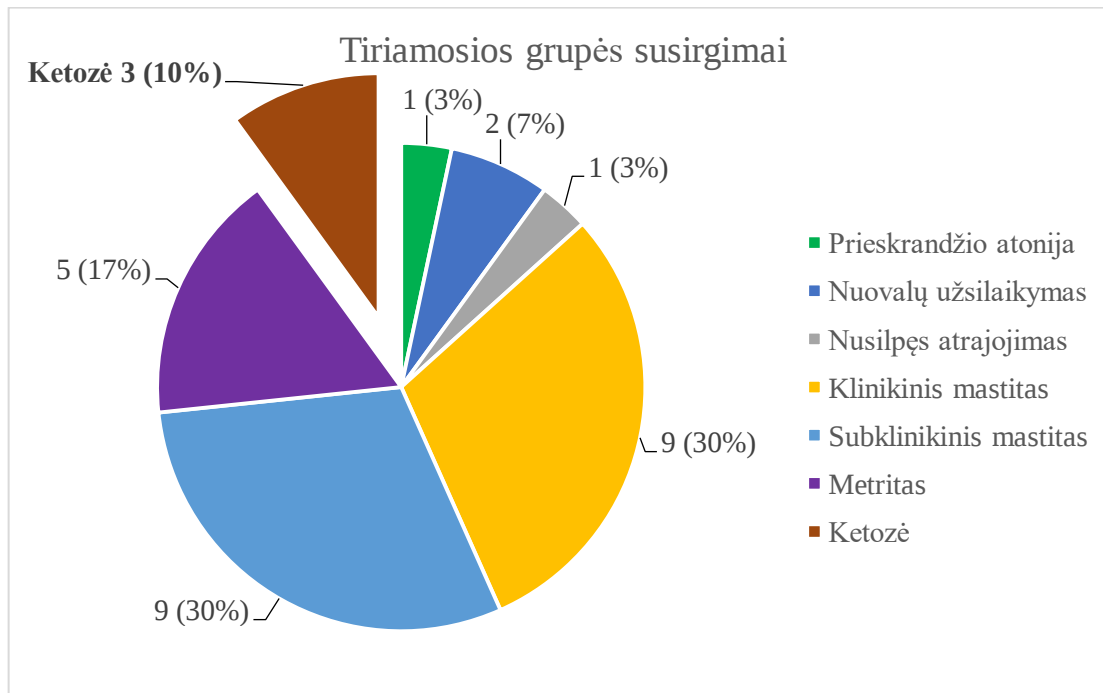
Biocheminiams kraujo parametrų normaliam pasiskirstymui įvertinti pritaikytas Shapiro Wilk testas, normalus parametrų pasiskirstymas rastas tik Albumino, GGT ir Bendrojo Baltymo parametruose, $p > 0.05$. Šių parametrų vidurkiai palyginti Pearsono T- testu. Prieš tai variacijų vienodumas buvo įvertintas Laveno testu.

Urea ir AST parametrams normalaus pasiskirstymo nenustatyta, $p < 0.05$, todėl šių parametrų medianos palygintos pagal neparametrinę analizę-Mann Whitney testą.

Bandos valdymo programos duomenų normalusis pasiskirstymas vertintas Kolmogorovo-Smirnovo testu. Tik pieno riebalų koncentracijos išsidėstymas buvo normalus - $p > 0,2$, tad šio parametro vidurkiai tarp grupių buvo vertinami Pearsono T - testu. Kitų parametrų medianų skirtumai palyginti Mann Whitney testu.

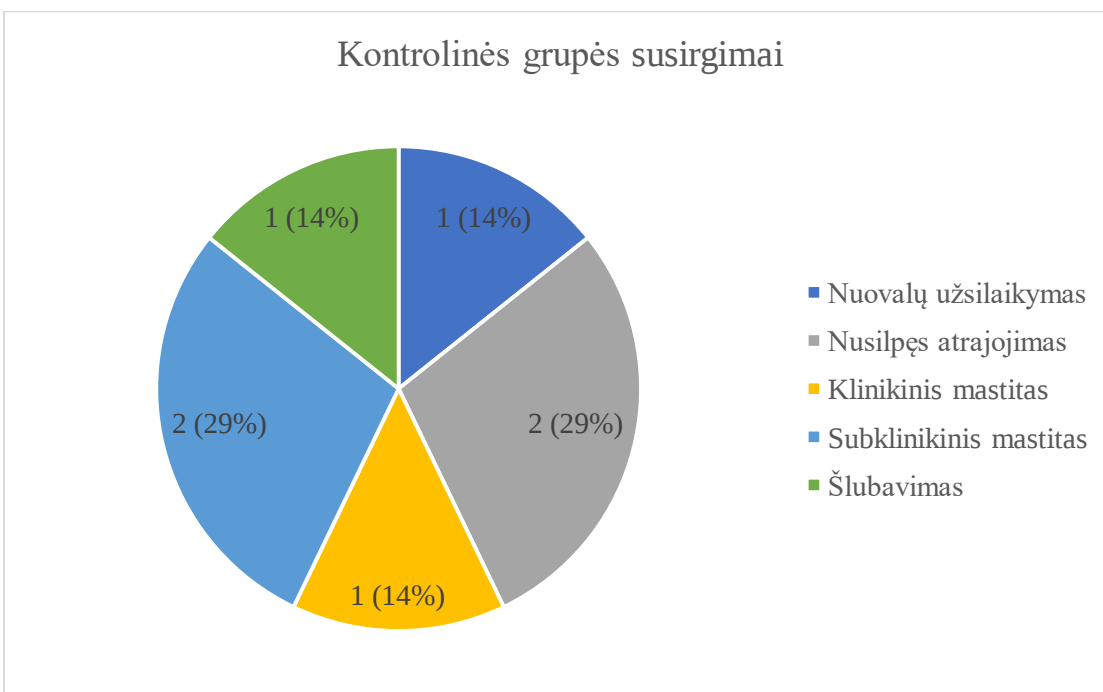
Spearmano koreliacija naudota neparametriniams bandos valdymo programos duomenims įvertinti. Koreliacija tarp pieno riebumo ir pieno R/B yra teigiama stipri (0.938) ir statistiškai patikima ($p < 0.001$), o tarp baltymų koncentracijos ir pieno R/B koreliacija yra neigiama ir vidutiniška (-0.393), statistiškai patikima ($p < 0,001$).

3. TYRIMO REZULTATAI



1 pav. Tiriamosios grupės susirgimai

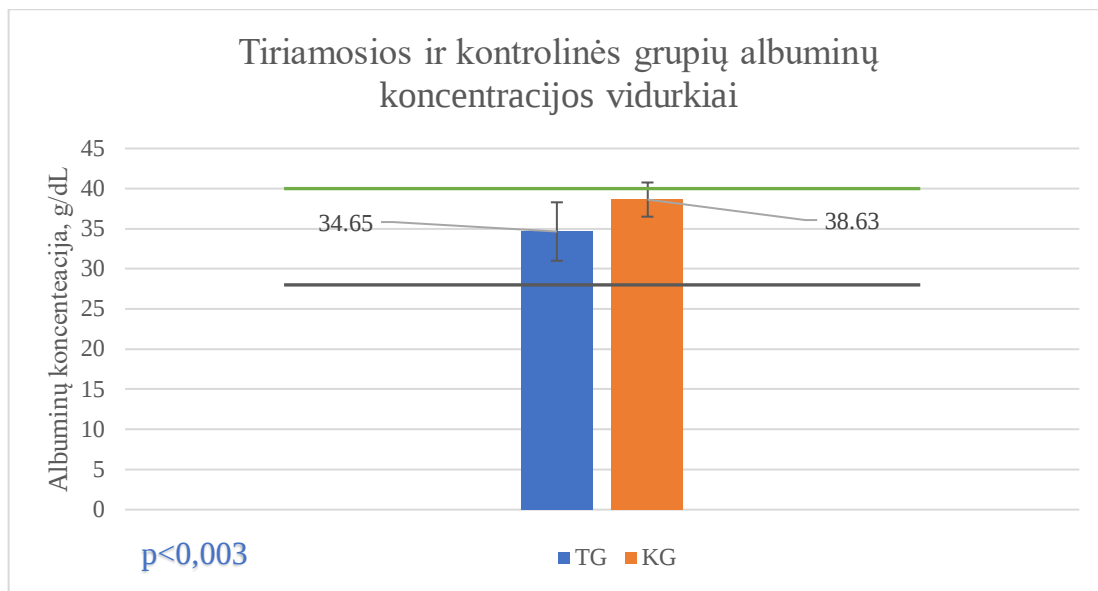
Atlikus tiriamosios ir kontrolinės grupių karvių susirgimų analizę, nustatyta, jog Tiriamųjų karvių grupėje su pakilusiu R/B santykiu pasitaikė tik 10 proc. ketozės atvejų, kurie išsivystė vėliau, po kraujo mėginių ėmimo. Dauguma kitų susirgimų indikavo apie ligas susijusias su tešmens sveikata: klinikinis mastitas – 30 proc., subklinikinis mastitis – 30 proc. Kiti, retesni susirgimai buvo metritas – 17 proc., nuovalų užsilaikymas – 7 proc., prieskrandžio atonija, nusilpęs atrajojimas – po proc.



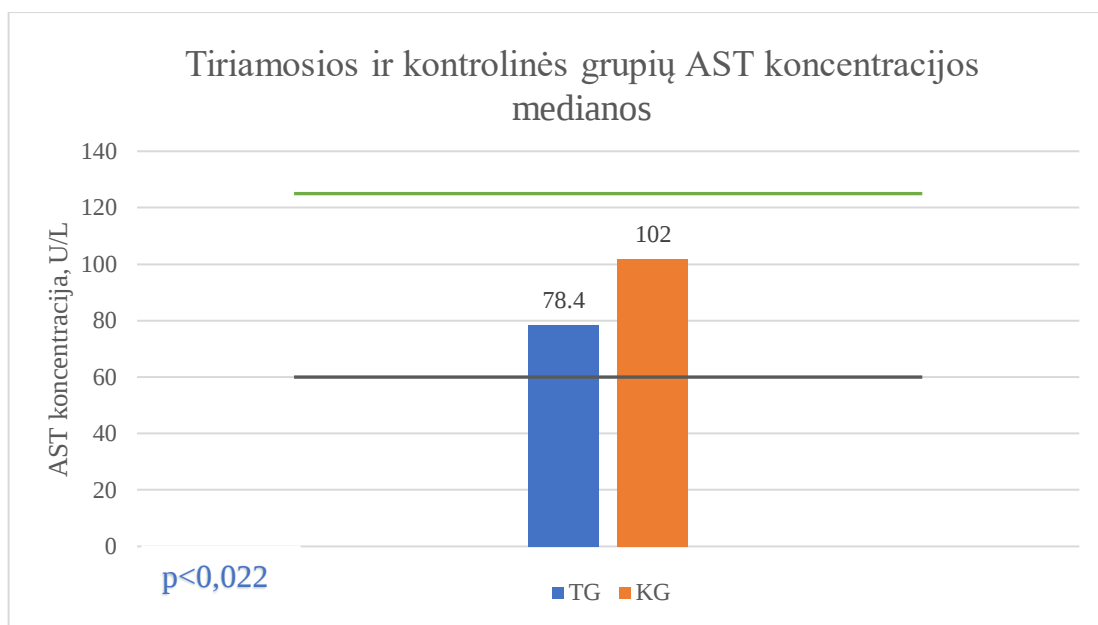
2 pav. Kontrolinės grupės susirgimai.

Kontrolinėje karvių grupėje susirgimų ketoze nebuvo, pasitaikiusios ligos, kaip ir TG, indikavo tešmens sveikatos sutrikimus, subklinikinis mastitis – 29 proc., klinikinis mastitis – 14 proc., taip pat 29 proc. - nusilpęs atrajojimas, 14 proc. - šlubavimas ir nuovalų užsilaikymas.

Tiriamosios (n=13) ir kontrolinės grupės (n=15) ištirta kraujo serumo biocheminiai parametrai (tirta AST, GGT, Bendrasis baltymas, Albuminai, Urėja). Statistiškai patikimų skirtumų tarp GGT, Bendro baltymo ir Urėjos parametrų tarp grupių nenustatyta. Statistiškai patikimus skirtumus tarp KG ir TG parodė Albuminai, kurių TG vidurkis 34,65 g/dL buvo patikimai 10,3 proc. mažesnis už KG vidurkį – 38,63 g/dL, $p < 0,003$. (3 pav.). Tiek tiriamosios, tiek kontrolinės grupės albuminai išliko fiziologinių normų ribose (28 – 40 g/dL).



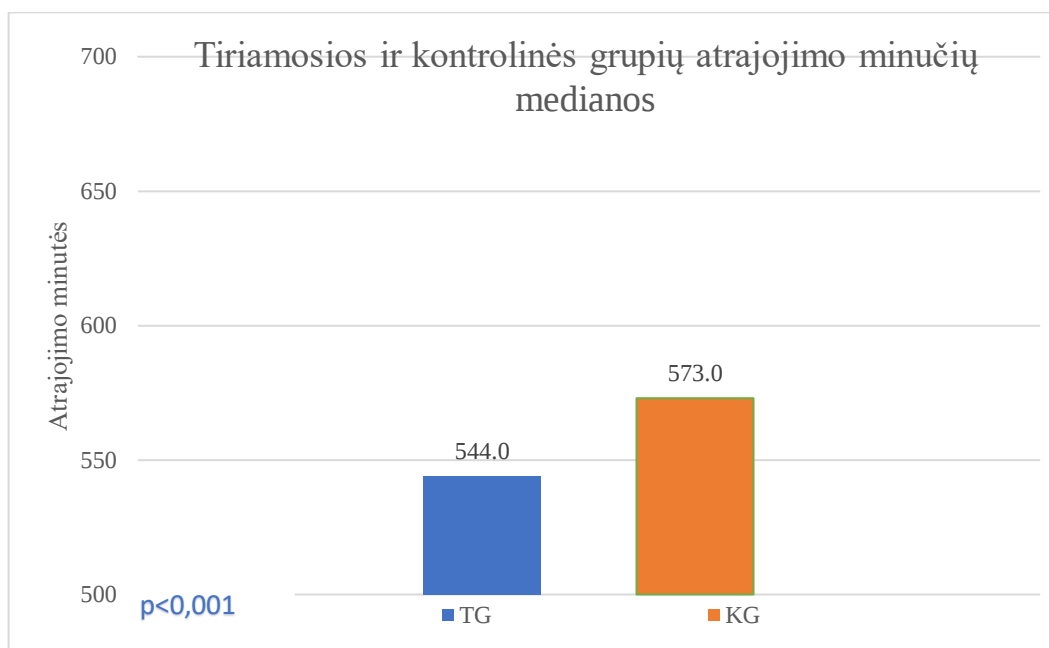
3 pav. Tiriamosios ir kontrolinės grupės albuminų koncentracijos vidurkliai. Linijos vaizduoja fiziologines albuminų ribas.



4 pav. Tiriamosios ir kontrolinės grupių AST koncentracijos medianos, linijos vaizduoja fiziologinių normų ribas

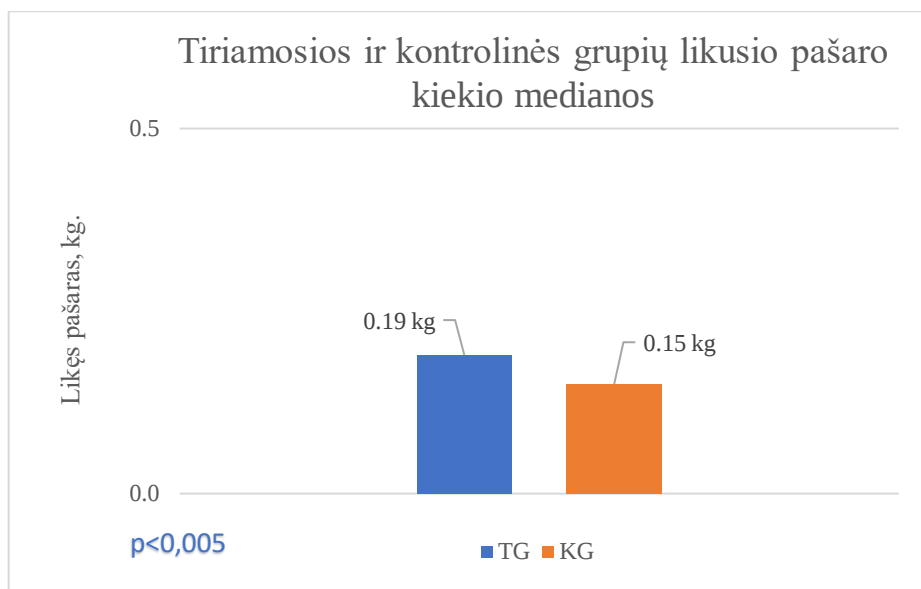
Tiriamosios grupės AST koncentracijos mediana 78,4 U/L (min 65,6, max 226,5) buvo mažesnė už kontrolinės grupės mediana 102 (min 74,2, max 275,9) šis skirtumas buvo statistiškai patikimas ($p=0,022$), (4 pav.). Tiek TG, tiek KG AST koncentracija išliko fiziologinių normų ribose (60 – 125 U/L).

Melžimo robotų tiriami parametrai (atraojimo minutės, svoris, likęs pašaras, koncentratų/100 kg pieno, dienos produkcijos vid., nuokrypis nuo dienos kiekio, baltymų kiekis, riebalų kiekis, R/B santykis, laktozės kiekis, SLS parodymai, bendras suvartojimas; KP, DP, KU, DU ketvirčių elektrinis pieno laidumas, pieno temperatūra) parodė skirtumų tarp TG ir KG. Skirtumai tarp atraojimo minučių ($p<0,001$), nesuvalgyto pašaro likučių ($p<0,005$), baltymų kiekio ($p<0,001$), riebalų kiekio ($p<0,001$), R/B ($p<0,001$), pieno temperatūros ($p<0,001$) buvo statistiškai patikimi. Tačiau, skirtumuose tarp karvių svorio ($p<0,183$), koncentratai/100 kg pieno ($p<0,621$), dienos produkcijos vidurkis ($p<0,313$), laktozės kiekis piene ($p<0,571$), bendras suvartojimas ($p<0,161$) statistinio patikimumo nebuvo.



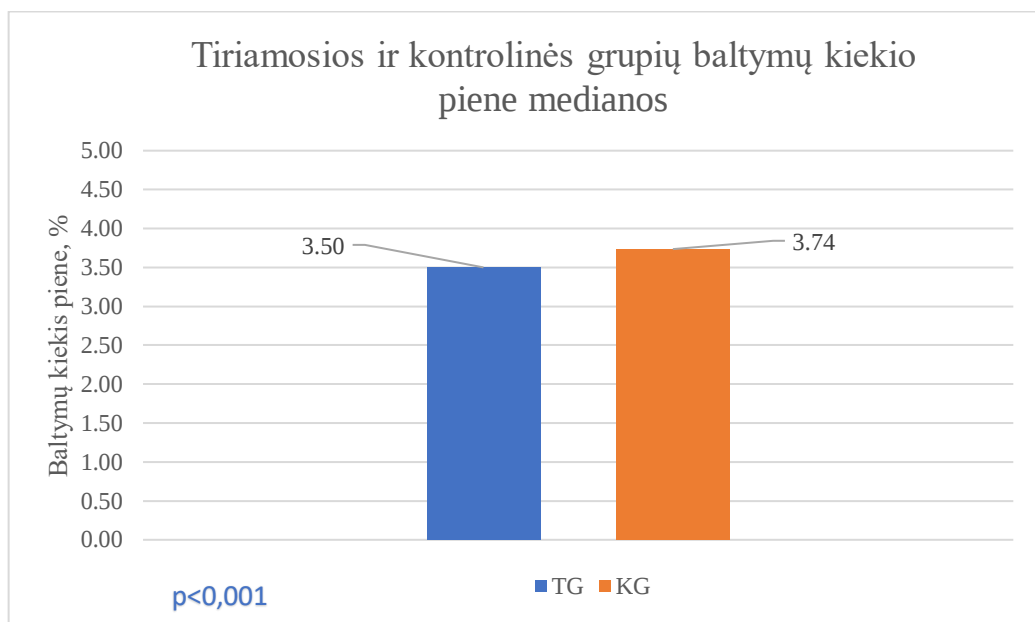
5 pav. Tiriamosios ir kontrolinės grupių atrajimo trukmės minutėmis medianos.

Tiriamosios grupės atrajimo trukmės mediana 544 min. (min 51, max 716) buvo mažesnė už kontrolinės grupės mediana 573 min. (min 251, max 716), skirtumas yra statistiškai patikimas, $p<0,001$. (5 pav.)



6 pav. Tiriamosios ir kontrolinės grupės nesuvalgyto pašaro medianos.

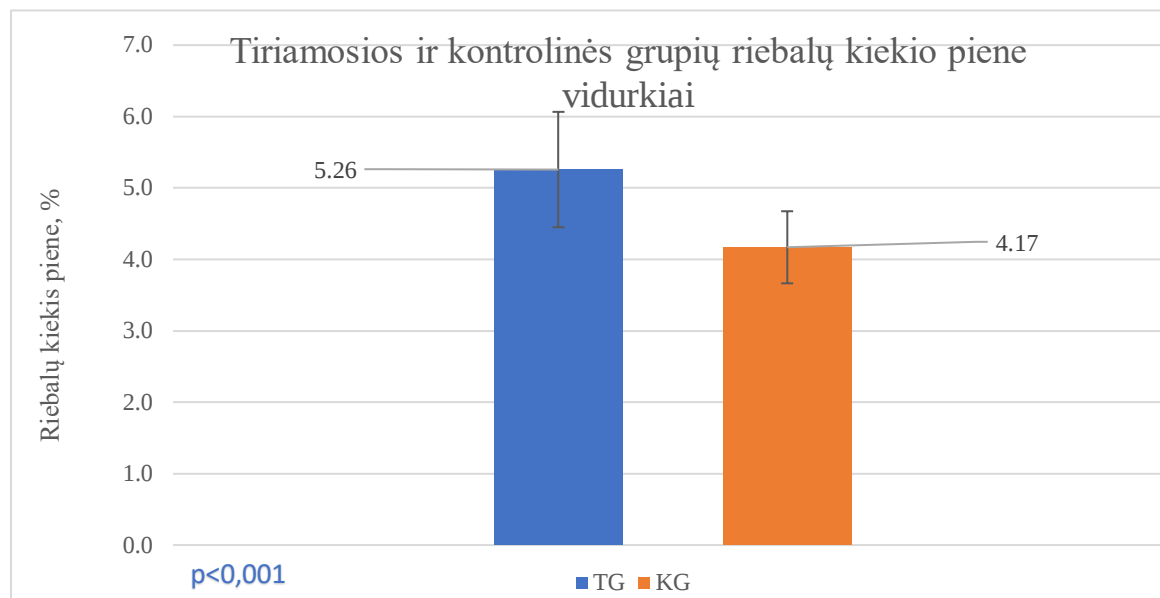
Tiriamosios grupės nesuvalgyto pašaro likučio mediana 0,19 kg (min 0,05, max 3,81) buvo didesnė už tiriamosios grupės medianą 0,15 kg (min 0,05, max 4,53), skirtumas yra statistiškai patikimas, $p < 0,005$. (6 pav.)



7 pav. Tiriamosios ir kontrolinės grupės baltymų kiekio piene medianos.

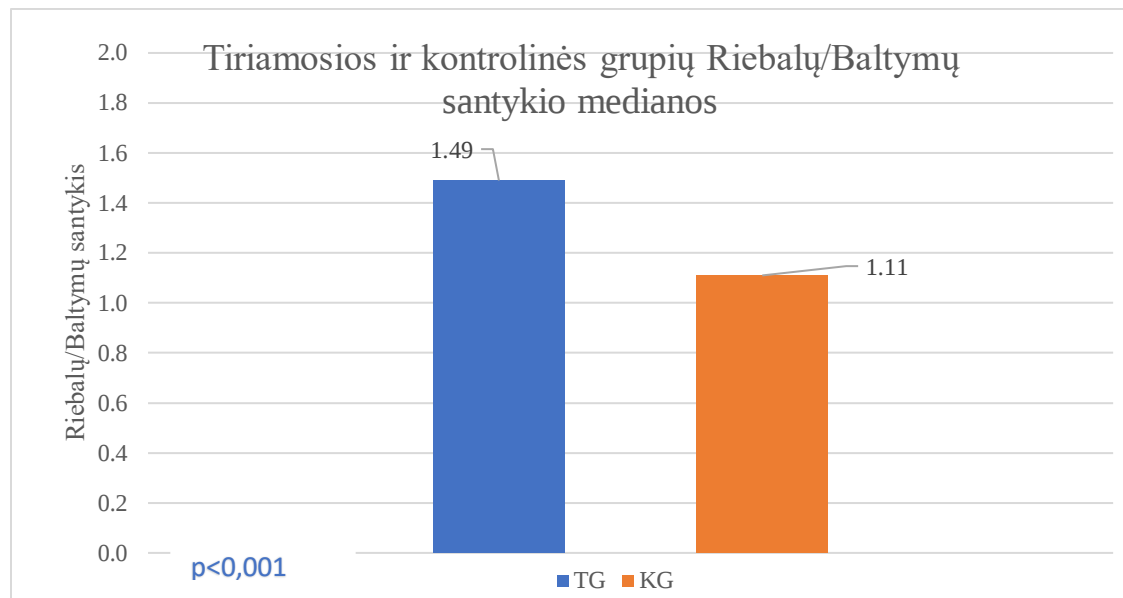
Tiriamosios grupės baltymų kiekio piene mediana 3,5 proc. (min 2,62, max 4,04) buvo mažesnė už kontrolinės grupės medianą 3,735 proc. (min 3,27, max 4,43), šis skirtumas yra

statistiškai patikimas, $p < 0,001$. (7 pav.)



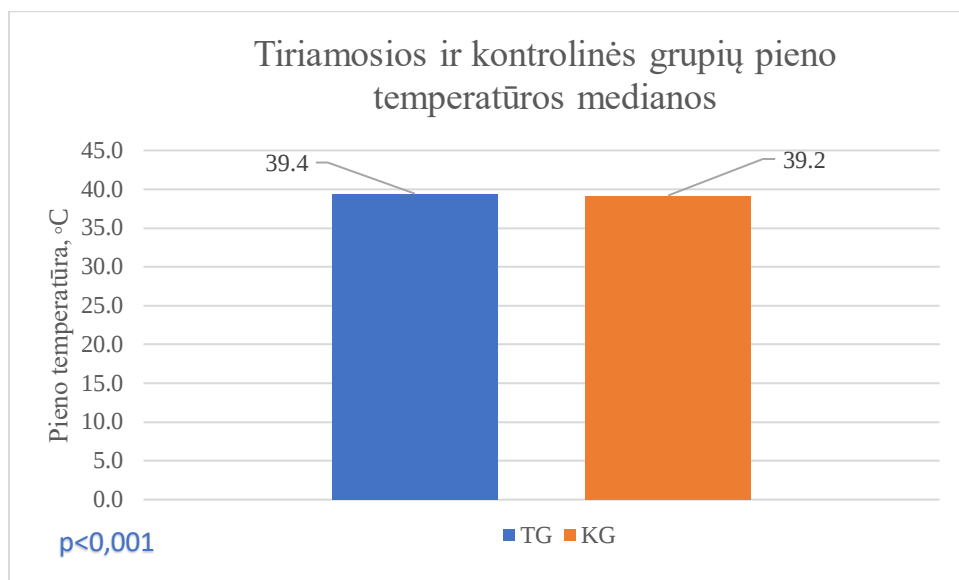
8 pav. Tiriamosios ir kontrolinės grupių riebalų kiekio piene vidurkiai. Linijos vaizduoja standartinę nuokrypį.

Tiriamosios grupės riebalų kiekio vidurkis 5.25 proc. yra 26 proc. statistiškai patikimai didesnis už kontrolinės grupės riebalų kiekio vidurkį 4.16 proc. , $p < 0,001$. (8 pav.)



9 pav. Tiriamosios ir kontrolinės grupės riebalų ir baltymų santykio piene medianos.

Tiriamosios grupės pieno riebalų ir baltymų santykio mediana 1,49 (min 0,91, max 2,73) buvo didesnė už kontrolinės grupės mediana 1,11 (min 0,87, max 1,35), šis skirtumas buvo statistiškai patikimas, $p < 0,001$. (9 pav.)



10 pav. Tiriamosios ir kontrolinės grupių pieno temperatūros medianos.

Tiriamosios grupės pieno temperatūros mediana 39,43°C (min 34,90, max 42,20) buvo didesnė už kontrolinės grupės mediana 39,2°C (min 37,55, max 40,25) skirtumas yra statistiškai patikimas, $p<0,001$. (10 pav.)

4. Rezultatų aptarimas

Tyrimo metu tiriamajame ūkyje buvo renkami kraujo mėginiai, tiriami pieno rodikliai „Lely Astronaut“ kompiuterine galvijų bandos valdymo programa. Tiriant pakilusį riebalų ir baltymų santykį buvo sudarytos dvi karvių grupės – tiriamoji ir kontrolinė. TG pasižymėjo pakilusiu R/B santykiu ($>1,4$), tačiau jų kraujyje nebuvo nustatyta pakilusio BHB ($<1,2$ mmol/L), kas leido atmesti subklinikinės ir klinikinės ketozės susirgimą. TG karvių susirgimai laikotarpyje tarp 2022 metų birželio iki 2022 metų lapkričio indikavo tik 10 proc. ketozės atvejų, didžioji dalis susirgimų buvo subklinikiniu mastu – 30 proc. ir klinikiniu mastu – 27 proc. KG buvo sudaryta pasirenkant tiriamųjų karvių atitikmenis naudojantis „Lely Astronaut“ galvijų bandos valdymo programa pagal jos fiksuojamos sveikatingumo parametrus (laktacijos skaičių, laktacijos dieną, pieno kiekį duodamą tą dieną ir numatomą laktacijos pieno kiekį, atrajojimo trukmę, svorį, likusio pašaro kiekį, baltymų, riebalų kiekį, R/B, laktozės kiekį, SLS, elektrinį pieno laidumą, pieno temperatūrą). TG ir KG surinkti kraujo mėginiai buvo lyginami pagal pasirinktus kraujo serumo biocheminius rodiklius (Urėja, AST, GGT, Bendrą baltymą, albuminus). Statistiškai patikimus skirtumus tarp KG ir TG parodė Albuminai, kurių TG vidurkis 34,65 g/dL buvo patikimai mažesnis už KG vidurkį – 38,63 g/dL, $p<0,003$. (3 pav.). Baltymų metabolizmas kepenyse karvių su subklinicine ir klinicine ketoze yra sutrikęs, tai atspindi statistiškai reikšmingas mažesnis serumo bendras baltymų ir albuminų kiekis, $p < 0,001$. (41) Kadangi albuminai skaidomi kepenyse, mažesnis jų kiekis gali indikuoti hepatocitų pažeidimus. (40) Taip pat skirtumai susidarė AST koncentracijose - tiriamosios grupės mediana 78,4 U/L (min 65,6, max 226,5) buvo mažesnė už kontrolinės grupės medianą 102 U/L (min 74,2, max 275,9) šis skirtumas buvo statistiškai patikimas ($p=0,022$), (4 pav.). Šio tyrimo metu AST koncentracija išliko normos ribose abejose grupėse (fiziologinės ribos 60 – 125 U/L), tačiau pagal kontrolinės grupės ligų pasiskirstymą 14 proc. karvių pradėjo šlubuoti. Kadangi kraujo paėmimo metu gyvūnas nešlubavo, galima teigti, kad kylanti AST koncentracija indikavo apie nagų pažeidimus. (56)

Tirtuose pieno sveikatingumo rodikliuose tarp tiriamosios ir kontrolinės grupės išsiskyrė atrajojimo trukmė, tiriamosios grupės atrajojimo trukmės mediana 544 min. (min 51, max 716) buvo mažesnė už kontrolinės grupės medianą 573 min. (min 251, max 716), $p<0,001$. (5 pav.) Remiantis Beauchemin nuomone (43) karvių atrajojimo laikas yra veikiamas daug skirtingų tipų faktorių, todėl atrajojimas kaip pavienis faktorius nėra labai informatyvus, tačiau vertinamas

kartu su kitais kriterijais gali padėti priimant sprendimus bandos valdyme. Liboreiro ir kiti tyrėjai (52) nustatė, kad karvės sergančios subklinikinė ketoze atrajojo mažiau nei sveikos karvės ($p < 0,05$). Taip pat, kito tyrimo metu buvo nustatyta, kad tikimybė susirgti subklinikinė ketoze ar kita klinikinė liga didėjo 1,2 karto kiekvienoms 20 min. trumpesnio atrajojimo ($p < 0,001$). (53)

Likęs nesuvalgytas pašaras tarp šėrimų buvo skirtingas tarp TG ir KG, tiriamosios grupės mediana 0,19 kg (min 0,05, max 3,81) buvo didesnė už tiriamosios grupės medianą 0,15 kg (min 0,05, max 4,53), $p < 0,005$. (6 pav.) Anot Shapirov ir kitų tyrėjų (45) nesuvartotas kiekis koncentratų buvo nustatytas karvėms, kurių produktyvumo vidurkis buvo 20,1 – 25,0 kg pieno, o nesuvartotas pašaras siekė $0,22 \pm 0,03$ kg/karvei/d. Kaufman ir kiti tyrėjai (53) savo tyrimo metu nustatė, kad ketoze ar subklinikinė ketoze sergančios daugiavedės karvės atrajoja mažiau nei sveikos daugiavedės karvės ($p < 0,006$).

Tiriamosios grupės baltymų kiekio piene mediana 3,5 proc. (min 2,62, max 4,04) buvo mažesnė už kontrolinės grupės medianą 3,73 proc. (min 3,27, max 4,43), šis skirtumas yra statistiškai patikimas, $p < 0,001$. (7 pav.) Panašius rezultatus užfiksavo Harjanti ir kiti tyrėjai (47), kurie savo tyrimo metu nustatė, kad baltymų kiekis piene sumažėjo, dėl atsiradusio pieno liaukos uždegimo ir uždegimo paveiktos kazeino koncentracijos. Šiame tyrime, pagal užfiksuotus susirgimus, taip pat susiduriame su nemažai tešmens problemų – kontrolinėje grupėje 43 proc. visų susirgimų, tiriamojoje grupėje net 60 proc. visų susirgimų.

Tiriamosios grupės riebalų kiekio vidurkis 5.25 proc. yra statistiškai patikimai didesnis už kontrolinės grupės riebalų kiekio vidurkį 4.16 proc., $p < 0,001$. (8 pav.) Pieno riebalų kiekis akivaizdžiai turi reikšmę komercinei pieno vertei. Kunes ir kiti tyrėjai (39) mano, kad pieno riebalai yra vienas iš svarbiausių ir universaliausių parametru tiriant karvės sveikatingumą ir pieno kokybę. Tačiau, Bansal ir kiti tyrėjai (48) savo tyrimo metu ryšio tarp baltymų kiekio ir riebalų kiekio ir mastito neatrado. Bet, Hussain kartu su kitais tyrėjais (49) nustatė, kad galvijų sergančių klinikinio mastito riebalų kiekis piene mažėja - 4.2 ± 0.5 proc., sveikų galvijų - 5.5 ± 0.3 proc., $p < 0.001$. Kita vertus, melžiamos karvės pirmomis melžimo savaitėmis patiria neigiamą energijos balansą ir kaip kompensacinis mechanizmas didelė dalis lipidų mobilizuojasi iš kūno riebalų atsargų, nuo intensyvios mobilizacijos pažeidžiamos kepenys. Dalis laisvųjų riebalų rūgščių, kurios yra mobilizuojamos, tiesiogiai įeina į pieno riebalus, todėl padidėja pieno riebalų procentas, kas leidžia įtarti subklinikinę ketozę. (14)

Tiriamosios grupės pieno riebalų ir baltymų santykio mediana 1,49 (min 0,91, max 2,73) buvo didesnė už kontrolinės grupės medianą 1,11 (min 0,87, max 1,35), šis skirtumas buvo statistiškai patikimas, $p < 0,001$. (9 pav.) R/B santykis priklauso nuo veislės ir priklauso nuo mitybos kokybės, medžiagų apykaitos ir maistinių medžiagų konversijos. R/B santykio reikšmės tarp 1,2 ir 1,4 yra laikomos optimaliomis pieninių galvijų ūkyje. Tikėtina, kad galvijai susirgs prieskrandžio acidoze, kai santykis mažesnis nei 1,2. Kita vertus, padidėjęs santykis virš 1,4 rodo energijos deficitą ir indikuoja subklinikinę ketozę. (39) Zoche-Golob ir kiti tyrėjai (46) nustatė, kad R/B santykis < 1 ir $\geq 1,5$ yra stipriai susijęs su klinikinio mastito pasireiškimu, taip pat šis ryšys didėja kartu su laktacijos dienų skaičiumi, $p < 0,001$. Autoriai mano, kad R/B santykis < 1 ir $\geq 1,5$ gali būti naudojamas klinikinio mastito identifikavimui jeigu yra atsižvelgiama į kitus faktorius ir rodiklius.

Tiriamosios grupės pieno temperatūros mediana 39,43 °C (min 34,90, max 42,20) buvo didesnė už kontrolinės grupės medianą 39,2 °C (min 37,55, max 40,25) skirtumas yra statistiškai patikimas, $p < 0,001$. (10 pav.) Pieno temperatūra, pagal Marrero ir kitus tyrėjus (54) matuojama infraraudonųjų spindulių kamera, buvo didesnė galvijų pieno liaukų ketvirčiuose su mastito sukėlėjais palyginti su tais ketvirčiais, kuriuose patogenų neaptikta. Taip yra todėl, kad imuninis atsakas, susijęs su patogeno invazija, sukelia imunologinius reiškinius, susijusius su temperatūros padidėjimu pieno liaukose.

Išvados

1. Tirdami ligų pasiskirstymą tarp tiriamosios ir kontrolinės grupės nustatėme, jog 10 proc. karvių iš tiriamosios grupės susirgo subklinikine ketoze, tad sistema šioms karvėms ligą nustatė teisingai. Tačiau, šių parametrų pasikeitimai taip pat smarkiai susiję su pieno liaukos problemomis – tiriamojoje grupėje 60 proc. atvejų, kontrolinėje – 40 proc. (klinikiniai ir subklinikiniai mastitai).
2. Atlikus kraujo biocheminių parametrų analizę pastebėtas 10,3 proc. mažesnis kiekis albuminų tiriamojoje grupėje, lyginant su kontroline grupe, atitinka ketozės diagnozę. AST koncentracija buvo didesnė kontrolinėje grupėje, kurioje buvo didesnis nagų problemų pasireiškimas. Tarp kitų tirtų parametrų patikimų skirtumų nerasta.
3. Įvertinę pieno parametrų skirtumus tarp tiriamosios ir kontrolinės grupės galime teigti, kad atrajojimo trukmės sumažėjimas, didesnis kiekis likusio pašaro, 26 proc. didesnis pieno riebumas ir mažesnis baltymingumas tiriamojoje grupėje indikuoja apie galimą subklinikinę ketozės formą. Tačiau, atsižvelgiant į šiuos ir kitus rodiklius galime įtarti ir pienos liaukos pažeidimus.
4. Įvertinus gautus tyrimo rezultatus galime teigti, jog pieno R/B santykis indikuoja apie subklinikinę ketozę - tai įrodo biocheminių parametrų rezultatai, pieno riebumas, baltymų santykio skirtumas, bei susirgimai tiriamojoje grupėje (10 proc.). Taip pat, svarbu paminėti, kad pieno R/B ir kiti tirti rodikliai gali indikuoti pieno liaukos problemas.

Rekomendacijos

Ūkininkams ir veterinarijos gydytojams pasitelkiant bandos valdymo programas esant sveikatos pranešimams susijusiems su pieno R/B ir atlikus greituosius kraujo tyrimus nustačius BHB koncentracija <1 mmol/L rekomenduojame atkreipti dėmesį į galimus susirgimus susijusius su pieno liaukomis (klinikinis ir subklinikinis mastitas). Taip pat, svarbu atkreipti dėmesį į tai, kad AMS patikimumas stipriai priklauso nuo daviklių ir reagentų kalibracijos, kurios dažnumą nurodo gamintojas. Prie to paties, pieno R/B labiau tinka nustatyti ketozę atvejus bandos lygmeniu, o vertinant pavienes karves „auksiniu standartu“ išlieka BHB kraujyje, nes R/B gali paveikti kitos ligos (subklinikinis, klinikinis mastitas).

Padėka

Noriu nuoširdžiai padėkoti savo magistrinio darbo vadovui Mingaudui Urbučiui už pagalbą atliekant tyrimą, atsakytus klausimus, patarimus ir pamokymus.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Borja KV, Amador AM, Parra SHS, Cárdenas CF, Núñez LF. Comparison of two diagnostic methods through blood and urine sample analyses for the detection of ketosis in cattle. *Veterinary World*. 2022 Mar 26;737–42.
2. Vanholder T, Papen J, Bemers R, Vertenten G, Berge ACB. Risk factors for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands. *Journal of Dairy Science*. 2015 Feb;98(2):880–8.
3. Zhang G, Ametaj BN. Ketosis an Old Story Under a New Approach. *Dairy* [Elektroninis išteklis]. 2020 Jun 1 [Žiūrėta 2022 10 07];1(1):42–60. Prieiga per internetą: https://www.mdpi.com/2624-862X/1/1/5/htm?fbclid=IwAR1vuKY04nHaOyye5TfqobTE6_zVSqRnIsCp3m3LDi5dkzeuteAVZqq6B7g
4. Yang W, Zhang B, Xu C, Zhang H, Xia C. Effects of ketosis in dairy cows on blood biochemical parameters, milk yield and composition, and digestive capacity. *Journal of Veterinary Research* [Elektroninis išteklis]. 2019 10 8 [Žiūrėta 2022 10 10];63(4):555–60. Prieiga per internetą: <https://sciencedirect.com/downloadpdf/journals/jvetres/63/4/article-p555.pdf>
5. Cao Y, Zhang J, Yang W, Xia C, Zhang H-Y, Wang Y-H, et al. Predictive value of plasma parameters in the risk of postpartum ketosis in dairy cows. *Journal of Veterinary Research*. 2017 Mar 1;61(1):91–5.
6. Otter A. Diagnostic blood biochemistry and haematology in cattle. In *Practice* [Elektroninis išteklis]. 2013 Jan [Žiūrėta 2022 08 10];35(1):7–16. Prieiga per internetą: <https://inpractice.bmj.com/content/35/1/7>
7. Stojić Z, Piršljin J, Milinković-Tur S, Zdelar-Tuk M, Beer Ljubić B. Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period. *Veterinarski arhiv* [Elektroninis išteklis]. 2005 Feb 20 [Žiūrėta 2022 10 12];75(1):67–73. Prieiga per internetą: <https://hrcak.srce.hr/clanak/100207>
8. Table: Serum Biochemical Reference Ranges [Elektroninis išteklis]. *MSD Veterinary Manual*. [Žiūrėta 2022 08 12]. Prieiga per internetą: <https://www.msdvetmanual.com/en-au/multimedia/table/v55095483>

9. Van Saun RJ. Indikatorens für Risiken bei Kühen in der Transitphase – eine Übersicht zu metabolischen Profilen. Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtiere / Nutztiere. 2016;44(02):118–26.
10. Puppel K, Kuczyńska B. Metabolic profiles of cow's blood; a review. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2016 May 31;96(13):4321–8.
11. Chládek G. The importance of monitoring changes in milk fat to protein ratio in Holstein cows during lactation. 2015.
12. CHEN Y, DONG Z, LI R, XU C. Changes in selected biochemical parameters during subclinical and clinical ketosis in dairy cows. Medycyna Weterynaryjna. 2019;74(10):6133–2019.
13. Guliński P. Ketone bodies – causes and effects of their increased presence in cows' body fluids: A review. Veterinary World. 2021 Jun 11;1492–503.
14. Djokovic R, Ilic Z, Kurcubic V, Petrovic M, Cincovic M, Petrovic M, et al. Diagnosis of subclinical ketosis in dairy cows. Biotehnologija u stocarstvu [Elektroninis išteklis]. 2019 [Žiūrėta 2022 10 18];35(2):111–25. Prieiga per internetą: <https://scindeks-clanci.ceon.rs/data/pdf/1450-9156/2019/1450-91561902111D.pdf>
15. Mazeris F. DeLaval Herd Navigator® Proactive Herd Management [Elektroninis išteklis]. 2010. Prieiga per internetą: <http://www.precisiondairy.com/proceedings/s1mazeris.pdf>
16. Wetering SJ van de. A throughout evaluation of the Lely Astronaut automatic milking system's health report. studentthesesuunl [Elektroninis išteklis]. 2019 [Žiūrėta 2022 10 19]; Prieiga per internetą: <https://studenttheses.uu.nl/handle/20.500.12932/35357>
17. Konkol K, Godden S, Rapnicki P, Overton M, Rollin E. Validation of a rapid cow-side test for the measurement of blood beta- hydroxybutyrate in fresh cows [Elektroninis išteklis]. 2008 [Žiūrėta 2022 10 19]. Prieiga per internetą: <https://conservancy.umn.edu/bitstream/handle/11299/57208/Konkol?sequence=1>
18. Nielsen NI, Friggens NC, Chagunda MGG, Ingvarsen KL. Predicting Risk of Ketosis in Dairy Cows Using In-Line Measurements of β -Hydroxybutyrate: A Biological Model. Journal of Dairy Science [Elektroninis išteklis]. 2005 Jul 1 [Žiūrėta 2022 10 19];88(7):2441–53. Prieiga per internetą: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030205729222>

19. Macmillan K, López Helguera I, Behrouzi A, Gobikrushanth M, Hoff B, Colazo MG. Accuracy of a cow-side test for the diagnosis of hyperketonemia and hypoglycemia in lactating dairy cows. *Research in Veterinary Science* [Elektroninis išteklius]. 2017 Dec 1 [Žiūrėta 2022 10 20];115:327–31. Prieiga per internetą:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0034528816306907>
20. King MTM, Duffield TF, DeVries TJ. Short communication: Assessing the accuracy of inline milk fat-to-protein ratio data as an indicator of hyperketonemia in dairy cows in herds with automated milking systems. *Journal of Dairy Science*. 2019 Sep;102(9):8417–22.
21. Viña C, Fouz R, Camino F, Sanjuán ML, Yus E, Diéguez FJ. Study on some risk factors and effects of bovine ketosis on dairy cows from the Galicia region (Spain). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2016 Apr 14;101(5):835–45.
22. Foster LA. Clinical Ketosis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 1988 Jul;4(2):253–67.
23. Garro CJ, Mian L, Cobos Roldán M. Subclinical ketosis in dairy cows: prevalence and risk factors in grazing production system. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2013 Nov 15;98(5):838–44.
24. Lei MAC, Simões J. Invited Review: Ketosis Diagnosis and Monitoring in High-Producing Dairy Cows. *Dairy*. 2021 Jun 18;2(2):303–25.
25. Ruoff J, Borchardt S, Heuwieser W. Short communication: Associations between blood glucose concentration, onset of hyperketonemia, and milk production in early lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2017 Jul;100(7):5462–7.
26. Clemmons EA, Stovall MI, Owens DC, Scott JA, Jones-Wilkes AC, Kempf DJ, et al. Accuracy of Human and Veterinary Point-of-Care Glucometers for Use in Rhesus Macaques (*Macaca mulatta*), Sooty Mangabeys (*Cercocebus atys*), and Chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* [Elektroninis išteklius]. 2016 May 1 [Žiūrėta 2022 11 06];55(3):346–53. Prieiga per internetą:
<https://www.ingentaconnect.com/content/aalas/jaalas/2016/00000055/00000003/art00016#>

27. Yameogo N, Ouedraogo GA, Kanyandekwe C, Sawadogo GJ. Relationship between ketosis and dairy cows' blood metabolites in intensive production farms of the periurban area of Dakar. *Tropical Animal Health and Production*. 2008 Jan 23;40(7):483–90.
28. Fadul-Pacheco L, Lacroix R, Séguin M, Grisé M, Vasseur E, Lefebvre D. Characterization of milk composition and somatic cell count estimates from automatic milking systems sensors [Elektroninis išteklius]. 2018 [Žiūrėta 2022 11 06]. Prieiga per internetą: <https://www.icar.org/Documents/Auckland-2018/Daniel%20Lefebvre.pdf>
29. King MTM, Dancy KM, LeBlanc SJ, Pajor EA, DeVries TJ. Deviations in behavior and productivity data before diagnosis of health disorders in cows milked with an automated system. *Journal of Dairy Science* [Elektroninis išteklius]. 2017 10 [Žiūrėta 2022 11 06];100(10):8358–71. Prieiga per internetą: <https://www.journalofdairyscience.org/action/showPdf?pii=S0022-0302%2817%2930696-3>
30. Jenkins NT, Peña G, Risco C, Barbosa CC, Vieira-Neto A, Galvão KN. Utility of inline milk fat and protein ratio to diagnose subclinical ketosis and to assign propylene glycol treatment in lactating dairy cows. *The Canadian Veterinary Journal* [Elektroninis išteklius]. 2015 08 1 [Žiūrėta 2022 11 21];56(8):850–4. Prieiga per internetą: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4502854/>
31. Čejna V, Chládek G. THE IMPORTANCE OF MONITORING CHANGES IN MILK FAT TO MILK PROTEIN RATIO IN HOLSTEIN COWS DURING LACTATION. *Journal of Central European Agriculture* [Elektroninis išteklius]. 2005 [Žiūrėta 2022 11 21];6(4):539–46. Prieiga per internetą: <https://hrcak.srce.hr/clanak/26763>
32. Negussie E, Strandén I, Mäntysaari EA. Genetic associations of test-day fat:protein ratio with milk yield, fertility, and udder health traits in Nordic Red cattle. *Journal of Dairy Science*. 2013 Feb;96(2):1237–50.
33. Kessell A. *Bovine Haematology and Biochemistry Learning objectives*. 2015.
34. İSSİ M, GÜL Y, BAŞBUĞ O. Evaluation of renal and hepatic functions in cattle with subclinical and clinical ketosis. *TURKISH JOURNAL OF VETERINARY AND ANIMAL SCIENCES*. 2016;40:47–52.

35. Benedet A, Manuelian CL, Zidi A, Penasa M, De Marchi M. Invited review: β -hydroxybutyrate concentration in blood and milk and its associations with cow performance. *Animal*. 2019;13(8):1676–89.
36. Simões Filho LM, Lopes MA, Brito SC, Rossi G, Conti L, Barbari M. Robotic milking of dairy cows: a review. *Semina: Ciências Agrárias*. 2020 Sep 19;41(6):2833–50.
37. Svennersten-Sjaunja KM, Pettersson G. Pros and cons of automatic milking in Europe1. *Journal of Animal Science*. 2008 Mar 1;86(suppl_13):37–46.
38. Odorčić M, Rasmussen MD, Paulrud CO, Bruckmaier RM. Review: Milking machine settings, teat condition and milking efficiency in dairy cows. *animal*. 2019 Jul;13(S1):s94–9.
39. Kunes R, Bartos P, Iwasaka GK, Lang A, Hankovec T, Smutny L, et al. In-Line Technologies for the Analysis of Important Milk Parameters during the Milking Process: A Review. *Agriculture [Elektroninis išteklius]*. 2021 Mar 1 [žiūrėta 2022 11 26];11(3):239. Prieiga per internetą: <https://www.mdpi.com/2077-0472/11/3/239>
40. Simonov M, Vlizlo V. Some blood markers of the functional state of liver in dairy cows with clinical ketosis. *BULGARIAN JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE*. 2015;18(1):74–82.
41. Marutsova VJ, Marutsov PD, Binev RG. Evaluation of some blood liver parameters in cows with subclinical and clinical ketosis. *BULGARIAN JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE*. 2019 Sep;22(3):314–21.
42. Cecchinato A, Bobbo T, Ruegg PL, Gallo L, Bittante G, Pegolo S. Genetic variation in serum protein pattern and blood β -hydroxybutyrate and their relationships with udder health traits, protein profile, and cheese-making properties in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 2018 Dec;101(12):11108–19.
43. Beauchemin KA. Invited review: Current perspectives on eating and rumination activity in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2018 Jun;101(6):4762–84.
44. M.-R. Arnould V, Reding R, Bormann J, Gengler N, Soyeurt H. Review: milk composition as management tool of sustainability. *BASE [Elektroninis išteklius]*. 2013 Jan 1 [žiūrėta 2022 11 27]; Prieiga per internetą: <https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=10425>
45. Sharipov D, Yakimov O, Akhmetzyanova F, Galimullin I. Features of concentrate feeding in an automatic milking system with free cow traffic. Valiev A, Ziganshin B, Nezhmetdinova F, Taylan A, Nizamov R, editors. *BIO Web of Conferences*. 2020;27:00010.

46. Zoche-Golob V, Heuwieser W, Krömker V. Investigation of the association between the test day milk fat–protein ratio and clinical mastitis using a Poisson regression approach for analysis of time-to-event data. *Preventive Veterinary Medicine* [Elektroninis išteklis]. 2015 Sep 1 [žiūrėta 2022 11 27];121(1):64–73. Prieiga per internetą: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167587715002305>
47. Wahyu Harjanti D, Sambodho P. Effects of mastitis on milk production and composition in dairy cows. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2020 Oct 1;518:012032.
48. Bansal BK, Hamann J, Grabowski NT, Singh KB. Variation in the composition of selected milk fraction samples from healthy and mastitic quarters, and its significance for mastitis diagnosis. *Journal of Dairy Research* [Elektroninis išteklis]. 2005 May 1 [žiūrėta 2022 11 28];72(2):144–52. Prieiga per internetą: <https://www.cambridge.org/core/journals/journal-of-dairy-research/article/abs/variation-in-the-composition-of-selected-milk-fraction-samples-from-healthy-and-mastitic-quarters-and-its-significance-for-mastitis-diagnosis/7951CC34D264DEB0ED3D2DF5E100547E>
49. Hussain R, Javed M, Khan A. Changes in Some Biochemical Parameters and Somatic Cell Counts in the Milk of Buffalo and Cattle Suffering from Mastitis [Elektroninis išteklis]. *Pakistan Veterinary Journal*. ONLINE; 2012 [žiūrėta 2022 11 28] p. 2074–7764. Prieiga per internetą: https://web.archive.org/web/20180410014415id_/http://www.pvj.com.pk/pdf-files/32_3/418-421.pdf
50. Macrae A. Interpreting blood haematology/biochemistry in cattle and sheep in the field. *Livestock*. 2017 Jan 2;22(1):28–32.
51. Jamrozik J, Schaeffer LR. Test-day somatic cell score, fat-to-protein ratio and milk yield as indicator traits for sub-clinical mastitis in dairy cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2011 Apr 20;129(1):11–9.
52. Liboreiro DN, Machado KS, Silva PRB, Maturana MM, Nishimura TK, Brandão AP, et al. Characterization of peripartum rumination and activity of cows diagnosed with metabolic and uterine diseases. *Journal of Dairy Science*. 2015 Oct;98(10):6812–27.
53. Kaufman EI, LeBlanc SJ, McBride BW, Duffield TF, DeVries TJ. Association of rumination time with subclinical ketosis in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2016 Jul;99(7):5604–18.
54. Marrero MG, Rijos-Fernández C, Vélez-Robles Y, Ortiz-Colón G, Sánchez-Rodríguez H, Jiménez-Cabán E, et al. Short-milking-tube infrared temperature as a subclinical mastitis

detection tool in tropical dairy farms. *Applied Animal Science* [Elektroninis išteklius]. 2020 Jun 1 [žiūrėta 2022 11 29];36(3):329–34. Prieiga per internetą:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2590286520300665>

55. Seifi HA, Gorji-Dooz M, Mohri M, Dalir-Naghadeh B, Farzaneh N. Variations of energy-related biochemical metabolites during transition period in dairy cows. *Comparative Clinical Pathology*. 2007 Mar 14;16(4):253–8.

56. Mohamadnia AR. Using metabolic profile test as a predictor of lameness indices and hoof lesions in dairy cows [Elektroninis išteklius]. *profdoc.um.ac.ir*. 2016 [žiūrėta 2022 11 29].

Prieiga per internetą: <https://profdoc.um.ac.ir/paper-abstract-1057046.html>